

Einfluss des BMPR2-Mutations-Status auf den klinischen Verlauf bei Patienten mit pulmonal-(arterieller) Hypertonie

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

des Fachbereichs Medizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

Vorgelegt von Geib, Janina Denise
aus Kaiserslautern

Gießen 2015

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II
des Zentrums für Innere Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Direktor: Prof. Dr. med. Werner Seeger

Gutachter: Prof. Dr. Ghofrani

Gutachter: Prof. Dr. Nef

Tag der Disputation: 02.02.2017

Selbstständigkeitserklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt.

Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Tübingen, den 10.08.2015

Janina Geib

Inhaltsverzeichnis

SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG	II
INHALTSVERZEICHNIS.....	III
1 EINLEITUNG	- 1 -
1.1 PULMONALE HYPERTONIE	- 1 -
1.1.1 <i>Definition und Klassifikation</i>	- 1 -
1.1.2 <i>Pathophysiologie und Pathogenese der pulmonalen Hypertonie</i>	- 5 -
1.1.3 <i>Genetische Variationen bei PH-Patienten</i>	- 5 -
1.1.4 <i>BMPR2-Mutationen bei PAH</i>	- 7 -
1.2 DIAGNOSTIK DER PAH	- 9 -
1.3 MEDIKAMENTÖSE THERAPIE DER IPAH	- 10 -
1.4 FRAGESTELLUNG	- 11 -
2 MATERIAL UND METHODIK.....	- 12 -
2.1 PATIENTEN	- 12 -
2.1.1 <i>Patientenkollektive</i>	- 12 -
2.2 BLUTENTNAHME UND ANALYSE DER PROBEN.....	- 12 -
2.3 STATISTISCHE AUSWERTUNG	- 13 -
3 ERGEBNISSE.....	- 14 -
3.1 ÜBERSICHT	- 14 -
3.1.1 <i>Geschlechterverteilung</i>	- 14 -
3.1.2 <i>Diagnose</i>	- 14 -
3.1.3 <i>Genanalyse</i>	- 15 -
3.1.4 <i>Alter und Diagnosedatum</i>	- 16 -
3.1.5 <i>NYHA-Klassifikation</i>	- 17 -
3.1.6 <i>Six minute walk und Hämodynamik</i>	- 19 -
3.2 MEDIKAMENTÖSE THERAPIE DER STUDIENPOPULATION.....	- 25 -
3.2.1 <i>Therapie mit Phosphodiesterase-5-Inhibitoren</i>	- 25 -
3.2.2 <i>Therapie mit Prostazyklin-Analoga</i>	- 28 -
3.2.3 <i>Therapie mit Endothelin-Rezeptor-Antagonisten</i>	- 30 -
3.3 KLINISCHER VERLAUF	- 34 -
3.3.1 <i>Zusammenhang der Überlebenszeit mit der Mutationsanalyse</i>	- 34 -

4	DISKUSSION.....	- 38 -
4.1	ZIELSETZUNG UND ZUSAMMENFASSUNG DER WICHTIGSTEN RESULTATE.....	- 38 -
4.2	PATIENTENAUSWAHL.....	- 39 -
4.3	GESCHLECHTERVERTEILUNG BEI PULMONALER HYPERTONIE.....	- 39 -
4.4	VORLIEGEN EINER MUTATION IM BMPR2-GEN.....	- 39 -
4.5	ALTER UND DIAGNOSEDATUM	- 40 -
4.6	NYHA-KLASSIFIKATION	- 40 -
4.7	SIX MINUTE WALK UND HÄMODYNAMIK.....	- 41 -
4.8	MEDIKAMENTÖSE THERAPIE	- 44 -
4.9	MUTATIONSSTATUS UND KLINISCHER VERLAUF	- 46 -
4.9.1	<i>Einschränkungen dieser Studie</i>	<i>- 48 -</i>
5	AUSBLICK.....	- 50 -
6	ZUSAMMENFASSUNG	- 52 -
7	SUMMARY.....	- 55 -
8	LITERATURVERZEICHNIS	- 57 -
9	ANHANG	- 65 -
9.1	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	- 65 -
9.2	TABELLENVERZEICHNIS	- 66 -
9.3	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	- 67 -
10	DANKSAGUNG	- 69 -

1 Einleitung

1.1 Pulmonale Hypertonie

1.1.1 Definition und Klassifikation

Die pulmonal-arterielle Hypertonie (PAH) ist eine schwere Erkrankung der präkapillären pulmonalen Gefäße. Histologisch findet sich bei der PAH ein Umbau der Pulmonalarterienwände: Initial zeigt sich zunächst eine Hypertrophie der Media der Pulmonalarterien bis hinab in die präarteriolen Abschnitte (1). Es kommt weiter zu einer Hyperplasie der Intima und zu einer Hypertrophie mit Hyperplasie der Media sowie der Adventitia. Diese strukturellen Veränderungen, die zu einer Obstruktion der betroffenen Gefäße und einem daraus resultierenden Druckanstieg führen, werden als vaskuläres Remodeling bezeichnet (2). An diesem Gefäßumbau sind verschiedene Mechanismen beteiligt: Vasokonstriktion, die Proliferation und Hyperplasie des Endothels und der glatten Gefäßmuskelzellen (smooth muscle cells; SMCs), sowie fibrotische Prozesse (3). Dabei spielen auch Endothelin-1, Prostazyklin und NO-vermittelte Signalwege eine entscheidende Rolle, welche auch die Angriffspunkte der modernen Therapie darstellen (4), indem sie den Gefäßtonus der pulmonalen Gefäße beeinflussen (5).

Bedingt durch die oben aufgeführten Mechanismen, kommt es durch die chronische Vasokonstriktion zu höheren arteriellen Drücken in der Lungenstrombahn und einem erhöhten pulmonalen Gefäßwiderstand mit erniedrigter Compliance (6). Im Verlauf der Erkrankung kommt es somit zu einem progressiven Anstieg des pulmonal-vaskulären Gefäßwiderstands, einem erhöhten rechtsventrikulären Afterload mit einer Rechtsherzbelastung (Cor pulmonale) und einer eingeschränkten rechtsventrikulären Funktion (7). In der Progression der Erkrankung führen diese letztendlich zu einem Rechtsherzversagen und dem Tod des Patienten.

Die durchschnittliche Lebenserwartung der unbehandelten idiopathischen pulmonal-arteriellen Hypertonie (IPAH) betrug vor Einführung einer wirksamen Therapie 2,8 Jahre nach Diagnosestellung. Die 5-Jahresüberlebensrate wurde mit 34% angegeben (8). Eine Studie von Galiè et al. (9) spricht von einer Reduktion der Mortalität um 43% unter einer gezielten Therapie. Thenappan (10) gibt nach Auswertung des nationalen Registers für PAH aus den Jahren 1982 bis 2006 ein medianes Überleben von 3,6 Jahren unter einer spezifischen Therapie an. Die 5-Jahres-Überlebensrate wird dort mit 58% angegeben.

Die IPAH stellt, wie eine nationale Studie aus Frankreich beweist, mit einer Prävalenz von 5,9/ 1 Million zwar eine seltene Erkrankung dar (11). Die sekundären Formen der pulmonalen Hypertonie sind weitaus häufiger (12). Das mittlere Erkrankungsalter lag bis 2005 bei etwa 50 Jahren, es zeigt sich jedoch eine steigende Tendenz (13). Die Erkrankung betrifft mit einem Verhältnis von bis zu 1,7: 1 mehr Frauen als Männer (14, 15, 11).

Eine pulmonale Hypertonie (PH) liegt dann vor, wenn der pulmonalarterielle Mitteldruck (mPAP) in Ruhe über 25 mmHg liegt. Für die Bezeichnung pulmonal-arterielle Hypertonie (PAH) muss darüber hinaus das Kriterium erfüllt sein, dass der pulmonal-arterielle Verschluss-Druck unter 15 mmHg liegen muss (16).

Da es sich bei der pulmonalen Hypertonie um eine Erkrankung handelt, die durch einen schleichenden Beginn mit unspezifischer Symptomatik gekennzeichnet ist, wird die Erkrankung oft erst spät diagnostiziert. Als Leitsymptome sind anzuführen: Allen voran die schleichend einsetzende Belastungsdyspnoe, des weiteren Schwindel, Thoraxschmerzen, Müdigkeit, Palpitationen, periphere Ödeme und im fortgeschrittenen Stadium Synkopen (4). Der funktionelle Status eines kardial oder pulmonal eingeschränkten Patienten wird durch die NYHA-Klassifikation bestimmt. Die NYHA-Klassifikation wurde auf der zweiten PPH-Weltkonferenz in Evian für die Pulmonale Hypertonie modifiziert (17, vgl. Tabelle 1: Modifizierte NYHA-Klassifikation bei pulmonaler Hypertonie).

Die eben genannte Klassifikation ist deshalb so wichtig, da der funktionelle Status einen hohen prädiktiven Wert für das Überleben besitzt. Das mittlere Überleben bei unbehandelten Patienten mit Stadium I oder II liegt bei 6 Jahren. Im Stadium III beträgt das mittlere Überleben noch 2,5 Jahre und im Stadium IV sogar nur noch 6 Monate (18). Ein weiteres wichtiges Mittel zur Abschätzung der körperlichen Belastungsfähigkeit von Patienten mit einer PAH stellt der 6-Minuten-Gehtest dar.

Stadium I	Patienten mit pulmonaler Hypertonie ohne Einschränkung der körperlichen Aktivität. Normale körperliche Belastungen führen nicht zu vermehrt Dyspnoe oder Müdigkeit, thorakalen Schmerzen oder Schwächeanfälle. (Symptomfreiheit)
Stadium II	Patienten mit pulmonaler Hypertonie mit einer leichten Einschränkung der körperlichen Aktivität. Keine Beschwerden in Ruhe. Normale körperliche Aktivität führt zu vermehrter Dyspnoe oder Müdigkeit, thorakalen Schmerzen oder Schwächeanfällen.
Stadium III	Patienten mit pulmonaler Hypertonie mit deutlicher Einschränkung der körperlichen Aktivität. Keine Beschwerden in Ruhe. Bereits leichte Belastungen führen zu Dyspnoe oder Müdigkeit, thorakalen Schmerzen oder Schwächeanfällen.
Stadium IV	Patienten mit pulmonaler Hypertonie mit Unfähigkeit, jegliche Art von körperlicher Belastung ohne Beschwerden auszuführen. Zeichen der manifesten Rechtsherzinsuffizienz. Dyspnoe und/oder Müdigkeit können bereits in Ruhe vorhanden sein. Bei geringer Aktivität verstärken sich die Beschwerden oder erst gar keine Belastung mehr möglich.

Tabelle 1: Modifizierte NYHA-Klassifikation bei pulmonaler Hypertonie(17)

Traditionell wird die pulmonale Hypertonie in eine primäre und eine sekundäre Form unterteilt. Aktuell wird die Erkrankung nach der im Jahre 2008 auf dem „4th World Symposium on PAH“ beschlossenen Dana-Point-Klassifikation nach klinischen, pathophysiologischen und therapeutischen Überlegungen eingeteilt (vgl. Tabelle 2: Dana Point Klassifikation). In der Dana-Point-Klassifikation taucht der Begriff der primären pulmonalen Hypertonie (PPH) nicht mehr auf. Sein Korrelat bildet nun die idiopathische pulmonal-arterielle Hypertonie (IPAH) (Simonneau et al., 2004).

Wie in Tabelle 2 beschrieben, wird die pulmonale Hypertonie in fünf verschiedene Untergruppen eingeteilt: Die pulmonal-arterielle Hypertonie (PAH), die pulmonale Hypertonie bei Erkrankungen des linken Herzens, die pulmonale Hypertonie bei Erkrankungen des respiratorischen Systems und/oder Hypoxie, die chronisch thrombembolische pulmonale Hypertonie (CTEPH) und die pulmonale Hypertonie mit unklarem multifaktoriellen Mechanismus (Simonneau et al., 2009).

1. Pulmonal-arterielle Hypertonie

- 1.1. Idiopathische PAH (IPAH)
 - 1.2. Hereditär
 - 1.2.1. BMPR2
 - 1.2.2. ALK1, endoglin (mit oder ohne hämorrhagische Teleangiaktasien)
 - 1.2.3. Unbekannt
 - 1.3. Medikamenten- oder Toxin-induziert
 - 1.4. Assoziiert mit
 - 1.4.1. Bindegewebserkrankungen
 - 1.4.2. HIV-Infektion
 - 1.4.3. Portale Hypertension
 - 1.4.4. Kongenitale Herzerkrankungen
 - 1.4.5. Schistosomen
 - 1.4.6. Chronisch hämolytische Anämie
 - 1.5. Persistierende pulmonale Hypertonie bei Neugeborenen
- 1`. Pulmonale venookklusive Erkrankung (PVOD) und/ oder pulmonal- kapilläre Hämangiomatose (PCH)

2. Pulmonale Hypertonie bei Erkrankungen des linken Herzens (pulmonal-venöse Hypertonie, PVH)

- 2.1. Systolische Dysfunktion
- 2.2. Diastolische Dysfunktion
- 2.3. Klappenerkrankungen

3. Pulmonale Hypertonie bei Erkrankungen des respiratorischen Systems und/ oder Hypoxämie

- 3.1. Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD)
- 3.2. Interstitielle Lungenerkrankungen
- 3.3. Andere Lungenerkrankungen mit gemischt restriktiven und obstruktiven Mustern
- 3.4. Schlafapnoen
- 3.5. Alveoläre Hypoventilationsstörungen
- 3.6. Chronischer Aufenthalt in großen Höhen
- 3.7. Entwicklungsstörungen

4. Pulmonale Hypertonie durch chronisch thrombotische und/ oder embolische Krankheiten (CTEPH)

5. Pulmonale Hypertonie mit unklarem multifaktoriellem Mechanismus

- 5.1. Hämolytische Störungen: myeloproliferative Erkrankungen, Splenektomie
- 5.2. Systemische Störungen: Sarkoidose, pulmonale Langerhanszell-Histiozytose, Lymphangioliomyomatose, Neurofibromatose, Vaskulitis
- 5.3. Metabolische Störungen: Glykogen-Speicherkrankheit, M. Gaucher, Schilddrüsenerkrankungen
- 5.4. Andere: Obstruktion durch einen Tumor, fibrosierende Mediastinitis, chronisches Nierenversagen durch Dialyse

Tabelle 2: Update Clinical Classification of Pulmonary Hypertension (20)

1.1.2 Pathophysiologie und Pathogenese der pulmonalen Hypertonie

Die verschiedenen Formen der pulmonalen Hypertonie zeigen gemeinsame strukturelle Veränderungen auf, obgleich sich sowohl die Ätiologie, als auch die pathophysiologischen Mechanismen deutlich unterscheiden. Bei der PAH ist nach Rosenkranz (4) davon auszugehen, dass es erst durch die Kombination bestimmter genetischer Faktoren (vgl. Abschnitt 1.6: Genetik), beim Patienten schon vorliegende Grunderkrankungen und eventuelle Triggermechanismen zu einer Manifestation der Erkrankung kommt (4).

Zu den Veränderungen gehören die Abnahme der Gefäßelastizität in den präkapillären Lungengefäßen, daraus resultierend eine persistierende aktive Vasokonstriktion, ein Gefäßverlust (Rarefaktion) und eine Querschnittsminderung (Obstruktion). Wie in Punkt 1.1 beschrieben, werden diese Umbauvorgänge auch als Remodeling bezeichnet (21). Nach Jeffery und Morell (22) kommt der Gefäßobstruktion durch Proliferation und dem Remodeling in der Pathogenese der pulmonalarteriellen Hypertonie die größte Bedeutung zu. Für die resultierende Hypertrophie der glatten Gefäßmuskelzellen in der Lunge sind überschießend sezernierte Wachstumsfaktoren (vascular endothelium growth factor, VEGF) mit verantwortlich (2).

1.1.3 Genetische Variationen bei PH-Patienten

Die IPAH ist durch ein Fehlen von Herzerkrankungen, Erkrankungen des ventilatorischen Systems, chronisch thromboembolischer Prozesse sowie weiterer sekundärer Systemerkrankungen wie einer Sarkoidose gekennzeichnet (23). Hiervon ist eine hereditäre Form abzugrenzen, wobei von der sporadischen Form ohne familiäre Disposition die familiäre Form zu unterscheiden ist (19). Die Forschung hat sich in den letzten Jahren intensiv mit der hereditären Form auseinandergesetzt um genetische Faktoren zu identifizieren. In diesem Kontext wurden bei bis zu 70% der familiären/hereditären PAH-Patienten eine Mutation in der Kodierungsregion des „bone morphogenic protein receptor type II“ (BMPR2) gefunden (24). Auch bei den idiopathischen Formen der PAH konnten in 11 bis 40% BMPR2-Mutationen festgestellt werden, obwohl diese auch artifiziell bedingt sein könnten (25, 26, 27, 28, 29, 30). Fest steht jedoch, dass es sich bei der BMPR2-Mutation um den wichtigsten bekannten prädisponierenden Faktor für diese Erkrankung handelt (31, 32, 33, 34, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35). Das BMPR2-Gen codiert für den Typ-2 Rezeptor für „bone morphogenic proteins (BMPs)“, der zur „transforming growthfactor- β (TGF- β)“ Superfamilie gezählt

wird und dessen hauptsächliche Liganden BMP 2, 4 und 7 darstellen (24). TGF- β reguliert unter anderem das Wachstum, ist für die Reparatur von Gewebe in allen Organen (36) und ist für die Reifung, Differenzierung, Apoptose und Migration zuständig. Die zelluläre Antwort auf TGF- β ist sehr variabel und zellspezifisch. Die hauptsächliche Wirkung wird beschrieben als Erhaltung der Immunhomöostase durch potente Immunsuppression durch Inhibition der Proliferation, Differenzierung und Aktivierung der Immunzellen (37). Der TGF- β Signalweg wird durch eine Superfamilie von Rezeptoren vermittelt, welche in die Typen I, II, III und V unterteilt werden, wobei Typ II der häufigste ist (38). Beispiel hierfür ist der Immunglobulin-Klassewechsel zu IgA in B-Lymphozyten, sowie die autokrine Stimulation von Osteoblasten und die Synthese bzw. der Abbau von Kollagen und Proteoglykanen in der Extrazellulär-Matrix (39).

BMPs vermitteln ihre Effekte durch die Aktivierung der Rezeptoren I und II, die sich auf den Zelloberflächen gegenüberliegen und durch Transduktion eine intrazelluläre Signalkaskade auslösen (33). BMPs haben verschiedene Affinitäten zu Typ-1 oder Typ-2 Rezeptoren (vgl. oben). Hierbei werden durch die Rezeptorenbindung heterotetramere Komplexe gebildet, welche Kombinationen vom BMP-Rezeptor Typ 1 (ALK 1/2/3/6) und 2 (BMPR2, ACVR2A, ACVR2B) enthalten (40,41). Neben verschiedenen anderen Funktionen sind BMPs bei der Steuerung der vaskulären Zellproliferation beteiligt, so wie der glatten Muskelzellen und der Endothelzellen (35), aber auch bei der Differenzierung von Knochen und Knorpel (die hierfür jedoch weniger relevant sind) (42). Sie spielen eine entscheidende Rolle in der Entwicklung nahezu aller Vertebralorgane und des embryonalen Gefäßsystems (43, 44). Die normale Funktion des BMPR2 in der pulmonalen Zirkulation scheint nach Newman (33) die Proliferation zu sein. Lowery (45) führt bei Patienten mit einer Mutation im BMPR2-Gen und einer HPAH neben der Proliferation noch pro- und antiinflammatorische Effekte, ein vaskuläres Remodeling, sowie eine abnorme pulmonale vaskuläre Reaktivität als ursächlich an. Heterozygote Träger der BMPR2-Mutation zeigen eine Haploinsuffizienz der BMPs im Transduktionsweg, was zu einer Dysregulation mit Proliferation von glatten Muskelzellen in den Pulmonalarterien führt (46), woraus sich die Pathophysiologie der hereditären pulmonalen Hypertonie ableiten lässt.

Die Penetranz der BMPR2-Mutation und damit das Risiko einer klinischen Manifestation ist mit ungefähr 20% niedrig und auch die genauen molekulargenetischen Mechanismen, die die Erkrankung hervorrufen sind noch nicht endgültig geklärt (14, 35, 46). Die aktuelle Literatur geht von einer multifaktoriellen Genese aus. Zudem zeigte sich in einer Publikation von Loyd eine genetische

Antizipation (14). Dem gegenüber steht eine neuere Untersuchung von Larkin et al. aus dem Jahre 2012, die genetische Antizipation als wahrscheinliches Artefakt aufgrund eines unzureichenden Beobachtungszeitraums darstellt (47). In den durchgeführten Screening-Verfahren fand sich eine signifikante Anzahl an gesunden Trägern der Mutation. Dieses Phänomen erklärt auch die eventuell auftretenden Generationensprünge und die sich daraus früher ergebende Schwierigkeit die Erkrankung auf eine genetische Ebene zurückzuführen (47). Verschiedene Veröffentlichungen haben gezeigt, dass das klinische und hämodynamische Erscheinungsbild, sowie die molekularen, als auch die zellulären Abnormalitäten bei der familiären und der idiopathischen PAH wenig Unterschiede aufwiesen (35, 48). Somit erscheint auch die signifikante Häufung von BMPR2-Mutationen bei IPAH-Patienten nicht verwunderlich (26). Verschiedene Untersuchungen fanden heraus, dass Träger der BMPR2-Mutation mit familiärer oder idiopathischer PAH seltener und weniger auf akute Vasodilatantien während einer Rechtsherzkatheteruntersuchung ansprachen als Nicht-Träger, was die Frage nach einer unterschiedlichen Pathophysiologie aufwirft, bisher aber noch nicht beantwortet werden konnte (49).

1.1.4 BMPR2-Mutationen bei PAH

In einer im Jahre 2000 veröffentlichten Studie (32) wies man eine BMPR2-Mutation bei familiären PAH-Patienten auf dem Chromosom 2q33 in 50% des untersuchten Patientenguts aus. Bei der idiopathischen PAH konnten in 26% (26) beziehungsweise 14,5% eine Mutation nachgewiesen werden, bei der HPAH sogar 53,3% (50). Neben den oben genannten Gen-Loci werden noch weitere Lokalisationen vermutet, die bei der Entstehung einer pulmonalen Hypertonie eine Rolle spielen könnten. Umgekehrt erkranken jedoch lediglich 20% der Mutationsträger an einer klinisch relevanten PAH (51).

Das „French Network of Pulmonary Hypertension“ versuchte in einer 2008 veröffentlichten Studie zu zeigen, dass eine Mutation im BMPR2-Gen mit einem bestimmten Krankheits-Phänotyp assoziiert ist (24). Hierzu wurden Patienten mit familiärer oder idiopathischer PAH auf eine Mutation oder große Rearrangements im BMPR2-Gen getestet. Dabei wurden klinische, funktionelle und hämodynamische Charakteristiken, sowie das klinische Outcome von BMPR2-Mutations-Trägern und Nicht-Trägern verglichen (24). Zwischen 2004 und 2007 wurden hierfür 233 Patienten (davon 195 Patienten mit idiopathischer und 38 Patienten mit familiärer PAH) in die Studie eingeschlossen. In der Studie zeigte sich in 20,5% der idiopathischen PAH (40 von 195), sowie in 73,7% der familiären PAH (28 von 38) eine BMPR2-Mutation (24).

Sztrymf (24) verglich 68 BMPR2-Mutations-Träger mit 155 idiopathischen Nicht-Trägern. BMPR2-Mutations-Träger zeigten sich bei Diagnosestellung signifikant jünger als die Nicht-Träger (34,5 vs. 46,0 Jahre). In Bezug auf den durchgeführten six minute walk erwies sich bei Sztrymf (24) auch hier ein Unterschied in der Gehstrecke (Träger: 351m vs. Nicht-Träger: 328m). Die Hämodynamik betreffend fiel bei Diagnosestellung eine sehr viel höhere Beeinträchtigung der Träger-Gruppe mit einem signifikant höheren „mittlerer pulmonal-arteriellen Druck (mPAP)“ (64 mmHg vs. 56 mmHg), einem kleineren „Herzindex (HI)“ (2,13 L/min vs. 2,50 L/min), einer höheren PVR (= pulmonal vaskulärer Widerstand) (17,4 mmHg/L/min/m² vs. 12,7 mmHg/L/min/m²) und eine niedrigere gemischt-venöse Sättigung (53% vs. 59%) auf. Des Weiteren zeigten Träger ein weniger starkes Ansprechen auf einen akuten Vasodilatations-Test während der Rechtsherzkatheter-Untersuchung. Zu Beginn der Studie bekamen mehr Träger Prostazyklin i.v. als First-Line-Therapie als Nicht-Träger (58% vs. 27%). Dies führten die Untersucher auf eine ernstere medizinische Situation der Träger zurück (24).

Während der Studie Sztrymf et al. starben 55 der 223 Studien-Patienten (18 Träger und 37 Nicht-Träger) mit einer vergleichbaren Überlebenszeit in beiden Gruppen (24). Hierbei ist zu erwähnen, dass es mehr Lungentransplantationen in der Gruppe der Träger gab, was mit einer signifikant kürzeren Überlebenszeit dieser ohne Transplantation einherging.

Die Kodierungsregionen der BMPR2-Mutation waren über das gesamte Gen zu finden, wobei sich fünf lange Deletionen immer wieder zeigten: Zwei Exon 10 Deletionen, eine lange Deletion der Exone 1 bis 4, eine Deletion der Exone 11 bis 13 und eine Deletion eines gesamten Allels (24).

In vielen anderen Studien wurde Ähnliches gefunden: Bis 2009 konnte laut Machado et al. 298 verschiedene Mutationen im BMPR2-Gen gefunden werden (51). In einer 2011 veröffentlichten Studie von Pfarr et al. wurden nochmals 12 neue BMPR2-Mutationen und 3 unklassifizierte Variationen gefunden (52).

In weiteren Vergleichsstudien von Machado (51), Koehler (28) und Austin (53) wurde für das Auftreten von BMPR2-Mutationen bei FPAH ein Bereich zwischen 58% und 74% und bei sporadisch auftretender pulmonaler Hypertonie zwischen 10 und 40% angegeben (51, 28, 53). Diese Ergebnisse decken sich mit der oben erwähnten französischen Studie von Sztrymf (24).

In der Studie von Machado (51) lag das zudem Alter bei Diagnosestellung der Träger im Bereich zwischen 36 und 50 Jahren, was sich ebenfalls mit dem Ergebnis der französischen Studie (24) deckt.

In einer neu veröffentlichten Studie aus dem Jahre 2012 wurde angenommen, dass die Penetranz der familiären PAH bei ungefähr 27% liegt, bei einer Geschlechterverteilung

von 3:1 (Frauen : Männer) jedoch mit 42% bei den Frauen und 14% bei den Männer eine geschlechterspezifische Verteilung zu Ungunsten der Frauen bedeutet (47).

1.2 Diagnostik der PAH

Bei einem Patienten mit einer Dyspnoe-Symptomatik sollte gerade wegen der unspezifischen Symptome und der dadurch meist erst spät gestellten Diagnose „Pulmonale Hypertonie“ an diese Differentialdiagnose gedacht und die unten angeführten diagnostischen Schritte eingeleitet werden (4).

Zur nicht invasiven Diagnostik gehört eine (transthorakale) Echokardiographie, mit Bestimmung von Größe und Funktion des rechten Ventrikels, aber auch die Detektion einer möglichen Trikuspidalklappeninsuffizienz, Messung von PAPs und Tei-Index. Ebenso wird, wie bereits angeführt, ein six minute walk durchgeführt, da er sich als verlässlicher Parameter hinsichtlich der Einteilung des Schweregrads, der Therapiekontrolle und Prognose herausgestellt hat (4). Neben diesen Maßnahmen werden auch laborchemische Tests wie die Bestimmung des BNP, das mit anderen klassischen Endpunkten (NYHA-Klasse, six minute walk, etc.) signifikant korreliert (54) und der Bestimmung des Troponin T (TnT), dem eine prognostische Aussagekraft hinsichtlich der Mortalität nachgewiesen werden konnte (55), durchgeführt. Eine andere Möglichkeit der nichtinvasiven Diagnostik stellt die Spiroergometrie dar. Zudem sollte ein Ausschluss relevanter Grunderkrankungen wie Kollagenosen, chronischer Lupus erythematoses, HIV, kongenitale Vitien, etc. erfolgen (4).

Die invasive Diagnostik stützt sich auf 2 Pfeiler: 1. Die (Rechts-) Herzkatheteruntersuchung und 2. Die pharmakologische Testung mit O₂, NO, Iloprost, Prostanoiden und Adenosin (4).

Die Rechtsherzkatheteruntersuchung ist im Bereich der Diagnostik und Therapieüberprüfung bei pulmonaler Hypertonie Standard. Während dieser Untersuchung wird kontinuierlich eine Druckmessung in der Pulmonalarterie durchgeführt und der pulmonalarterielle Verschluss-Druck (= Wedge-Druck; PAWP) als Hinweis auf den linksatrialen Druck, sowie das Herzzeitvolumen (= Cardiac Output; CO) bestimmt (56).

Der six minute walk ist ebenfalls eine Standardmethode zur Einschätzung der physischen Leistungsfähigkeit bei der Diagnostik und Therapie, aber auch bei der Prognose der pulmonalen Hypertonie (57).

1.3 Medikamentöse Therapie der IPAH

Die Therapie der IPAH ist nach NYHA-Stadien aufgeteilt. Patienten mit NYHA I-III werden auf ihr Ansprechen auf akute Vasodilatoren (iNO, Iloprost u.a., keine Kalziumantagonisten) in einer RHK untersucht. Sprechen sie akut stark an, wird eine hochdosierte Kalziumantagonisten-Therapie gestartet. Bei gutem langfristigem Ansprechen wird diese Therapie aufrechterhalten (13, 77).

Patienten der NYHA-Stadien II-IV werden einer sequenziellen Therapie (meist zunächst eine der Substanzen) mit den derzeit zugelassenen Therapieoptionen Prostanoiden, Endothelin-Rezeptor-Antagonisten oder Phosphodiesterase-5-Inhibitoren unterzogen (76, 77, 78, 79, 80). Bei einem Ansprechen auf die gegebene Substanz und Verbesserung des NYHA-Stadiums wird diese Monotherapie beibehalten. Bei einem unzureichenden Therapieerfolg und einem Nichterreichen der prognostisch bedeutsamen Zielparameter ist eine Kombinationstherapie mit den oben genannten Substanzgruppen in Erwägung zu ziehen (13, 77).

Prognostisch bedeutsame Zielparameter der PAH-Therapie sollten sein: Six minute walk >380 m, VO₂max >10,4 ml/min/kg und maximaler systolischer Blutdruck unter Belastung >120 mmHg (58). Kleinere klinische Studien konnten bereits additive oder synergistische Effekte bei unterschiedlichen Kombinationen zeigen, die sich durch die unterschiedlichen Angriffspunkte der oben genannten Behandlungsansätze erklären lassen (58). Dennoch sind bisher nur sehr wenige der vielen potentiellen Möglichkeiten einer Kombinationstherapie in kontrollierten klinischen Studien untersucht worden. Als Ultima-Ratio-Maßnahme stellt die Lungentransplantation eine weitere Therapieoption dar (59).

1.4 Fragestellung

Die bisher durchgeführten Studien haben gezeigt, dass viele der IPAH-Patienten eine Mutation im BMPR2-Gen haben. Daraus ergeben sich weitere Fragen, die in der vorliegenden Studie geklärt werden sollen:

- Unterscheiden sich die Träger von den Nicht-Trägern?
- Ist das klinische Outcome der Träger schlechter als das der Nicht-Träger?
 - Erkranken die Träger schwerer an pulmonaler Hypertonie?
 - Erkranken die Träger früher an pulmonaler Hypertonie?
- Profitieren Träger mehr von einer spezifischen Therapie als Nicht-Träger?
- Ergeben sich aus der Analyse Hinweise auf einen therapeutischen Nutzen?

2 Material und Methodik

2.1 Patienten

2.1.1 Patientenkollektive

Im Rahmen dieser observativen Studie, welche am Zentrum für Innere Medizin des Universitätsklinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen durchgeführt wurde, wurden zwischen Januar 1996 und Juli 2007 Untersuchungen an Patienten vorgenommen, welche sich zur Diagnostik oder Therapie einer pulmonalen Hypertonie in stationärer Behandlung befanden. Es handelte sich hierbei um Patienten der beiden pneumologischen Schwerpunktstationen der Medizinischen Klinik II. Ein positives Ethikvotum der Universität Heidelberg liegt vor (EK-Nummer: 065/2001).

Alle eingeschlossenen Patienten litten unter einer invasiv bestätigten pulmonalen Hypertonie.

Im Wesentlichen besteht die untersuchte Patientengruppe aus IPAH-Patienten, es wurden jedoch auch einzelne Patienten aus anderen Diagnosegruppen eingeschlossen. Es wurden demographische Daten wie Erkrankungsalter, Krankheitsdauer und Todesalter erhoben.

2.2 Blutentnahme und Analyse der Proben

Die Patienten wurden über die beabsichtigten Untersuchungen und Eingriffe umfassend aufgeklärt. Danach erklärten die Patienten ihr schriftliches Einverständnis zur Verwendung ihrer anonymisierten Daten und Blutproben zu Forschungszwecken. Zusätzlich zur Rechtsherzkatheteruntersuchung und einem six minute walk, welche bei den Patienten aus diagnostischen Gründen indiziert waren, musste jede(r) Patient/-in sich einer Blutentnahme unterziehen. Für diese hier vorgestellte Studie lag im Vorfeld ein positives Votum der Ethikkommission des Fachbereichs Humanmedizin vor. Zur Sequenz- und MLPA-Analyse erfolgte die Blutentnahme bei allen Patienten über die Vena cubiti media in eine EDTA-Monovette. Aus dem gewonnen Vollblut der Patienten wurde die DNA isoliert und bei -80 Grad Celsius gelagert, bis nach einer Polymerase-Kettenreaktion eine Sequenzanalyse mit MLPA-Analyse (Multiplex Ligation-dependent

Probe Amplifikation), sowie eine DHPLC-Analyse (high-performance liquid chromatography) durch ein auswärtiges Labor in Heidelberg durchgeführt wurden.

Eine MLPA-Analyse ist zur Analyse großer Deletionen und Duplikationen geeignet, eine DHPLC-Analyse hingegen eignet sich zur Detektion von Punktmutationen, kleinen Insertationen, Deletionen und Duplikationen.

2.3 Statistische Auswertung

Die gewonnenen Patientendaten wurden durch eine SPSS-Software (17.0; SPSS Inc., Chicago, Illinois) statistisch ausgewertet und wie folgt weiter bearbeitet:

Von den ermittelten Daten wurde bei Normalverteilung der Mittelwert und die Standardabweichung beschrieben, sonst Median und Interquartilenabstand. Für die Fragestellung, ob Unterschiede zwischen zwei Gruppen statistisch signifikant sind, wurde der T-Test beziehungsweise den Chi-Quadrat-Test verwendet, bei nicht normalverteilten Daten der Man-Whitney-U-Test sowie andere non-parametrische Test (u.a. für die Auswertung der NYHA-Stadien, etc.). Für die Überlebenszeitanalyse wurden der Log-Rank-Test und die Cox-Regression verwendet. P-Werte unter 0,05 wurden als statistisch signifikant definiert. Als Verschlechterung wurde der Eintritt des Todes oder die Eskalation der pulmonalen Hypertonie-Mediation, wie der Hinzunahme eines weiteren spezifischen Medikaments definiert. Die quantitative Analyse erfolgte mittels einer ANOVA. Die Überlebensanalysen erfolgten mittels Kaplan-Meier-Schätzer und dem Log-Rank-Test, sowie der Cox-Regressionsanalyse.

3 Ergebnisse

3.1 Übersicht

3.1.1 Geschlechterverteilung

Von den 80 Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden, waren 31,3% Männer (n= 25) und 68,8% Frauen (n= 55). Dieses Ergebnis wird in Abbildung 1 deutlich.

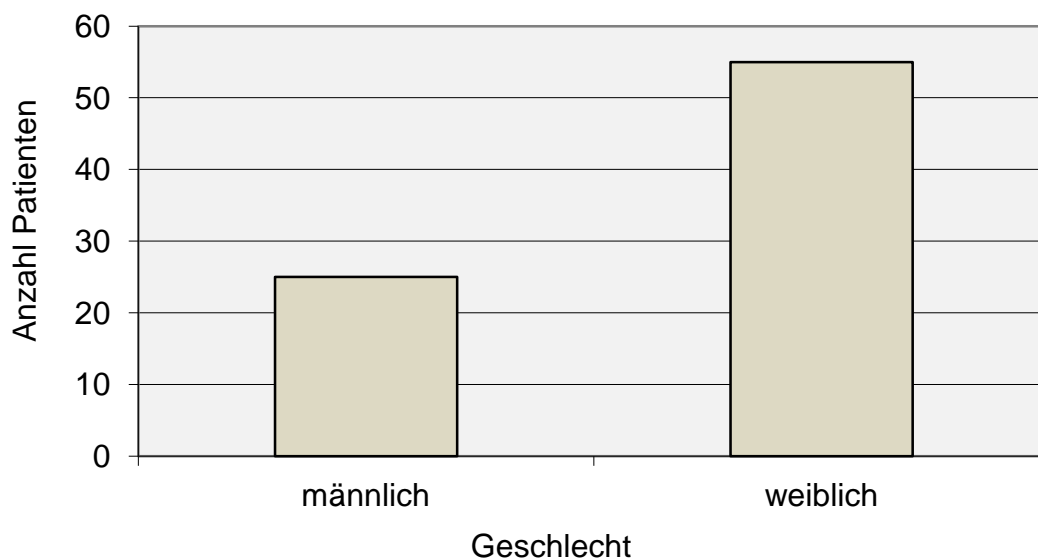


Abbildung 1: Geschlechterverteilung

3.1.2 Diagnose

Zu Beginn der Studie wurden die Patienten in Gruppen nach ihrer Diagnose zusammengefasst und die Daten diesbezüglich ausgewertet.

Es litten 56 (= 70%) der 80 untersuchten Patienten an einer idiopathischen pulmonalarteriellen Hypertonie, 3 (= 3,8%) an einer familiären pulmonalarteriellen Hypertonie, 1 (= 1,3%) an einer Lungenfibrose mit PH, (= 2,5%) an einer chronisch-thromboembolischen pulmonalen Hypertonie, 2 (= 2,5%) an einem Atrium-Septum-Defekt mit PH, 1 (= 1,3%) Patient an systemischem Lupus erythematodes, 3 (=3,8%) Patienten an PVOD, 2 (= 2,5%) Patienten an PVH, sowie 10 (= 12,5%) Patienten an einer pulmonalen Hypertonie unklarer Genese.

3.1.3 Genanalyse

Bei allen Patienten der Studie (n= 80) wurde eine Genanalyse durchgeführt. Ergebnisse bezüglich des BMPR2-Status liegen bei 100% der Studienpopulation vor.

Bei 36 (= 45%) der untersuchten Patienten lag keine Mutation im BMPR2-Gen vor. Bei der Mehrzahl der Patienten (n= 44; entspricht 55%) konnte eine Mutation nachgewiesen werden.

Untersucht wurde daraufhin, welche Diagnose bei den Patienten mit einer Mutation vorlag (Ergebnisse in Tabelle 3 dargestellt). Das Ziel war es, schon hieraus eine Gesetzmäßigkeit bezüglich der Verteilung von Mutationsträgern und Nicht-Mutationsträgern festzustellen.

		Mutation	
Diagnose	gesamt	Ja	Nein
ASD	2	2	0
CTEPH	2	1	1
Fibrose	1	0	1
FPAH	3	1	2
IPAH	56	33	23
PVH	2	0	2
PVOD	3	1	2
SLE	1	1	0
unklare Genese/ in Abklärung	10	5	5
total	80	44	36

Tabelle 3: Übersicht Vorhandensein Mutation in Bezug auf die Diagnose

Von den 56 IPAH-Patienten konnte in 33 Fällen eine Mutation festgestellt werden, in 23 Fällen fehlte diese jedoch. Bei den 3 FPAH-Patienten wurde bei 1 Probe eine Mutation entdeckt, 2 Proben erbrachten ein negatives Ergebnis. Bei den Patienten mit den Diagnosen Lungenfibrose, pulmonal-arterieller Hypertonie und PVH entdeckte man keine Mutationen. Dahingegen wurden bei den Diagnosen ASD, sowie SLE bei jedem Patienten dieser Diagnosegruppen eine Mutation festgestellt. Patienten mit der Diagnose CTEPH hatten in 50% der Fälle (n= 2) eine Mutation im BMPR2-Gen, bei

den 3 Patienten aus der Gruppe PVOD wurde in einer Probe eine Mutation entdeckt, sowie bei 5 Patienten mit der Diagnose einer pulmonalen Hypertonie unklarer Genese.

3.1.4 Alter und Diagnosedatum

Das Alter bei Diagnosestellung (vgl. Abbildung 2) lag bei den Mutationsträgern (Mittelwert 40,6 +/- 14,0 Jahre) unter dem der Nicht-Mutationsträger (Mittelwert 45,6 +/- 16,0 Jahre). Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen ergab sich aber nicht ($P = 0,17$). Auch das Datum der Diagnosestellung lag bei den Trägern (Mittelwert 03/2003) unter dem der Nicht-Träger (Mittelwert 09/2004) (in Abbildung 3 dargestellt).

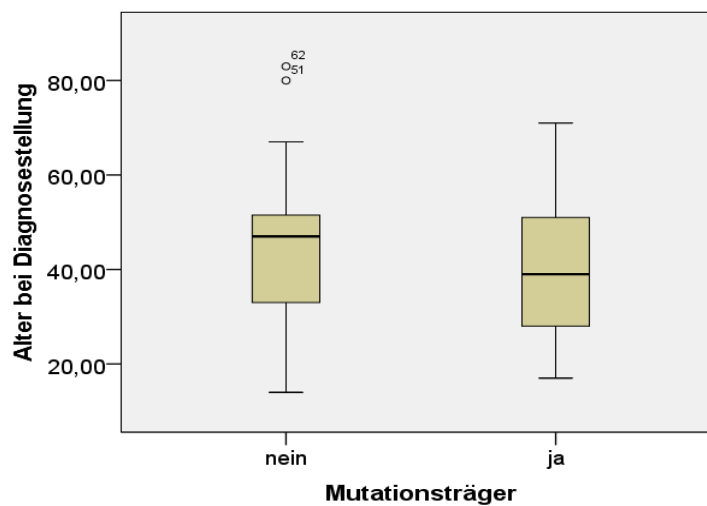


Abbildung 2: Alter bei Diagnosestellung im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse

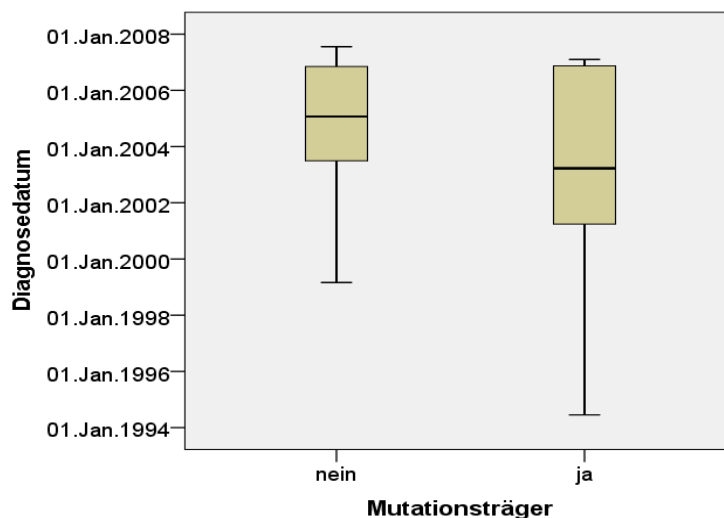


Abbildung 3: Diagnosedatum im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse

3.1.5 NYHA-Klassifikation

Wie oben beschrieben, wird die modifizierte NYHA-Klassifikation benutzt, um den funktionellen Status der Patienten zu bestimmen. Für die Auswertung konnten die Daten von 66 Patienten aus dem Kollektiv verwendet werden. Hierbei ergab sich folgende Verteilung.

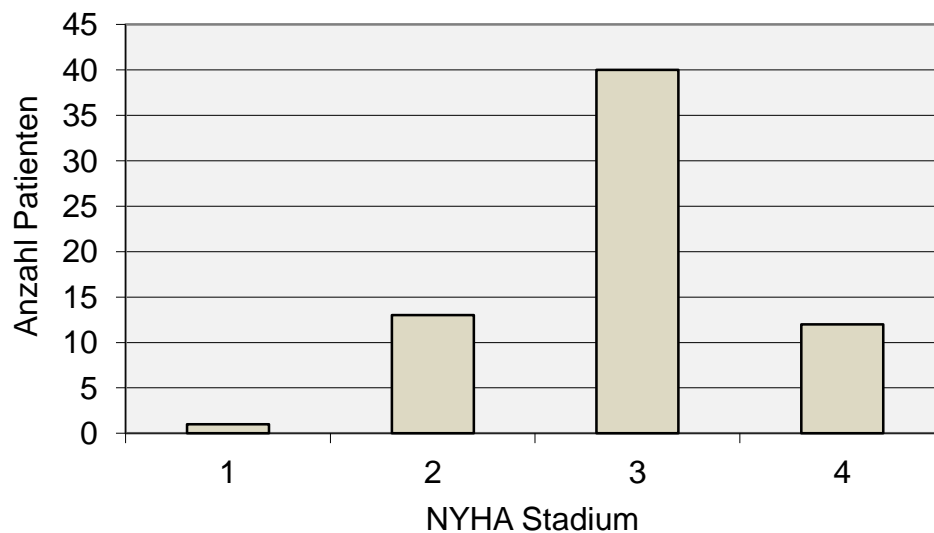


Abbildung 4: NYHA-Stadien

Ein Patient konnte Stadium I (= 1,3%) zugeteilt werden, in Stadium II befanden sich 13 Patienten (= 16,3%), in Stadium III 40 Patienten (= 50%) und in Stadium IV weitere 12 Patienten (15%). Alle angegebenen Werte sind in Abbildung 4 dargestellt worden.

Daraufhin wurde untersucht, ob sich eine Aussage darüber treffen lässt, ob Patienten mit Mutation kränker sind und damit ein höheres NYHA-Stadium haben als solche ohne Mutation (vgl. Tabelle 4 und Abbildung 5).

NYHA	Mutation		total
	nein	ja	
I	0	1	1
II	3	10	13
III	19	21	40
IV	9	3	12
total	31	35	66

Tabelle 4: Übersicht NYHA-Klassifikation Probanden

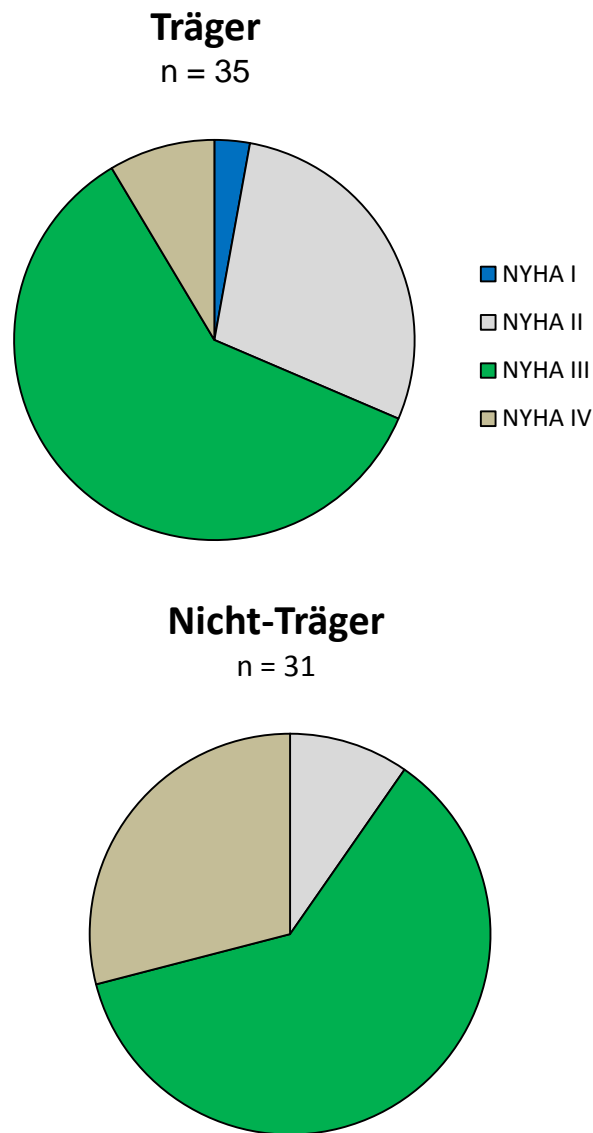


Abbildung 5: NYHA-Stadium im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse

Anhand dieser Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einer Mutation (Mittelwert 2,7 +/- 0,6) ein signifikant niedrigeres NYHA-Stadium ($P = 0,05$) aufweisen als Nicht-Mutationsträger (Mittelwert 3,2 +/- 0,7).

In der von uns untersuchten Studienpopulation ergibt sich somit kein Korrelat für die Annahme, dass Patienten mit Mutation kränker sind als solche, die keine Mutation aufweisen, sondern umgekehrt.

3.1.6 Six minute walk und Hämodynamik

Darüber hinaus wurden weitere Faktoren in die Studie miteinbezogen, die eine Aussage über den Zustand des Patienten treffen konnten. Wie in Kapitel 1.2.2. bereits erwähnt, eignet sich der six minute walk sehr gut zur Überprüfung der physischen Leistungsfähigkeit des von uns gewählten Patientenkollektivs.

Bei diesem Test ergab sich, dass Patienten ohne Mutation eine kürzere Gehstrecke (Mittelwert 371 +/- 134 Meter) erreichten als Patienten mit einer Mutation (Mittelwert 431 +/- 137 Meter). Somit waren die Mutationsträger belastbarer ($P = 0,07$) als die Nicht-Träger (vgl. Abbildung 6).

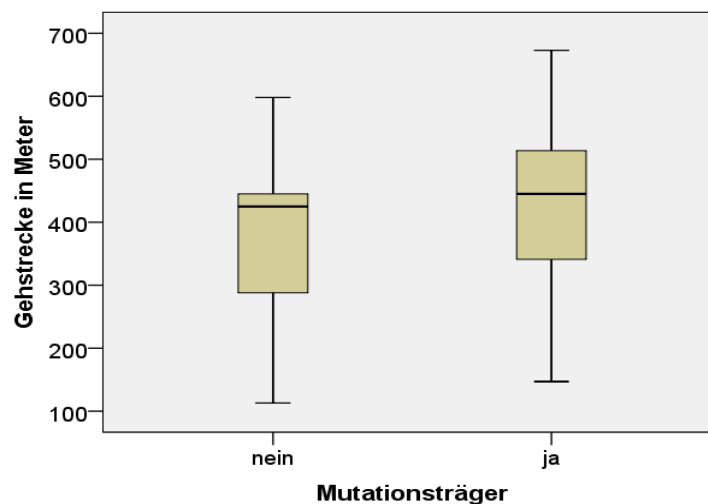


Abbildung 6: Six minute walk im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse

Für die im Blut gewonnenen Parameter stellte sich heraus, dass in Bezug auf den Natrium- (Träger: Mittelwert 140 +/- 4 mmol/l; Nicht-Träger: Mittelwert 140 +/- 5 mmol/l), Hb- (Träger: Mittelwert 16 +/- 2 g/dl; Nicht-Träger: Mittelwert 16 +/- 2 g/dl), Kreatinin- (Träger: Mittelwert 1 +/- 0,3 mg/dl; Nicht-Träger: Mittelwert 1 +/- 0,5 mg/dl) und Harnsäure-Wert (Träger: Mittelwert 7 +/- 2 mg/dl; Nicht-Träger: Mittelwert 7 +/- 3 mg/dl) keine signifikanten Unterschiede zeigten (vgl. Abbildungen 7, 8, 9, 10).

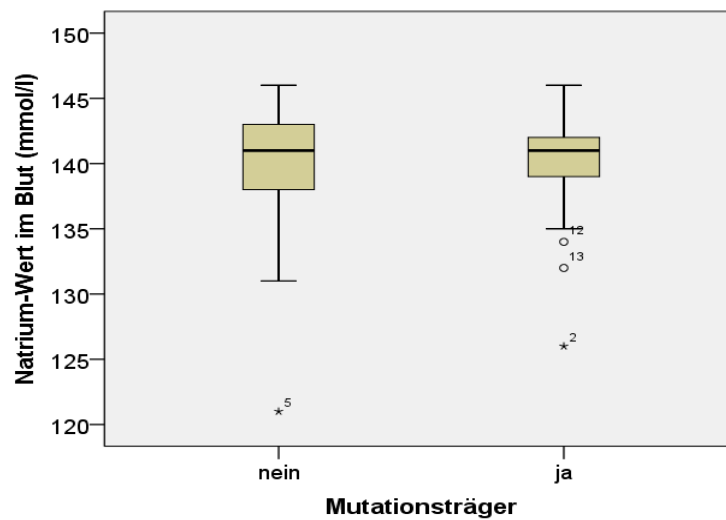


Abbildung 7: Natrium-Wert im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse

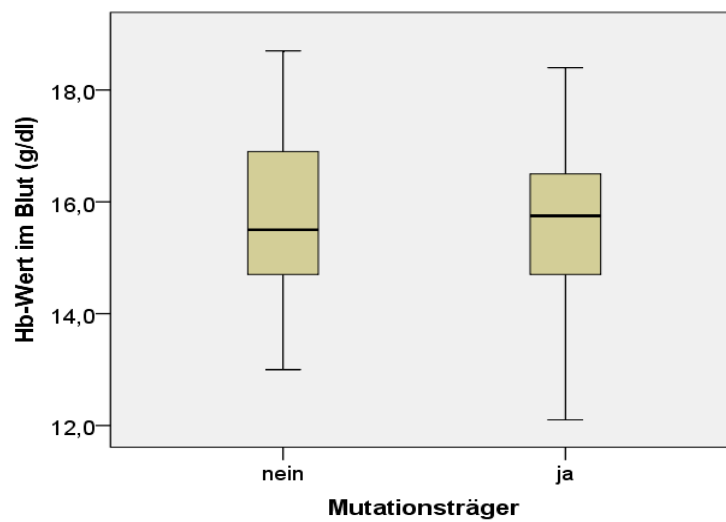


Abbildung 8: Hb-Wert im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse

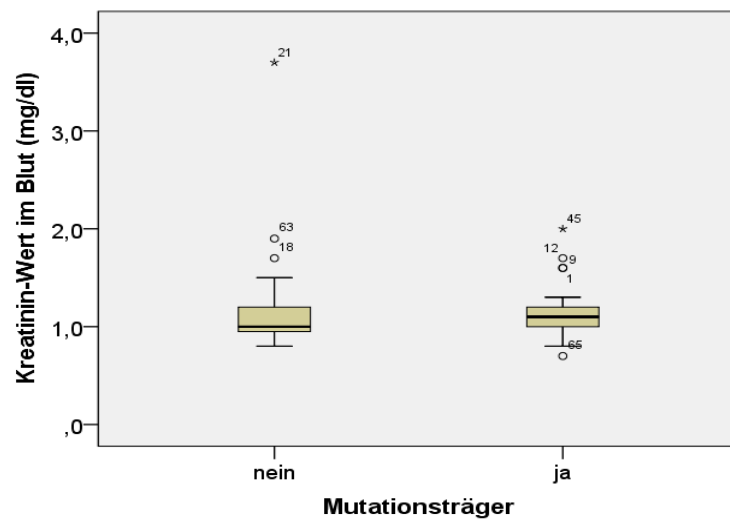


Abbildung 9: Kreatinin-Wert im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse

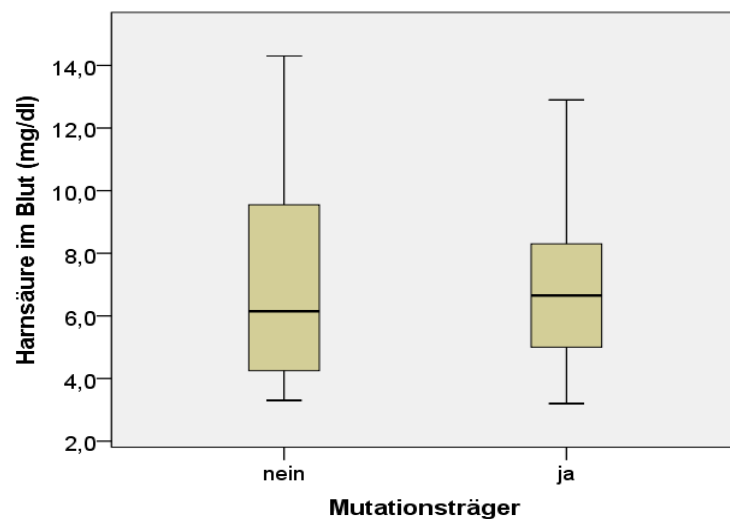


Abbildung 10: Harnsäure-Wert im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse

Für den BNP-Wert ergab sich, wie in Abbildung 11 ersichtlich, dass Patienten ohne Mutation einen weit höheren Wert (Mittelwert 388 +/- 443 pg/ml) hatten als Patienten mit Mutation (Mittelwert 169 +/- 208 pg/ml) ($P=0,06$).

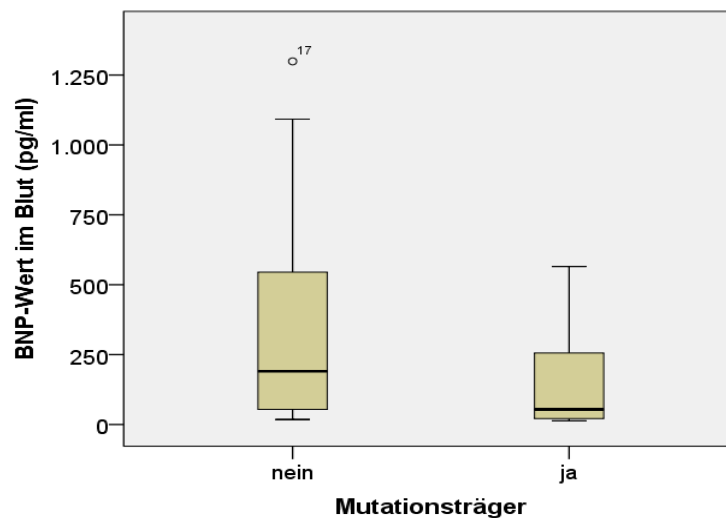


Abbildung 11: BNP-Wert im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse

Bei den Werten der Herzkatheteruntersuchung zeigte sich ein Unterschied in Bezug auf den mittleren PAP-Wert (mPAP). Hierbei stellte sich heraus, dass Patienten, die Träger einer Mutation waren, einen höheren mPAP-Wert (Mittelwert 57 +/- 18 mmHg) als Patienten ohne Mutation (Mittelwert 52 +/- 18 mmHg) ($P = 0,29$). Ebenfalls keine signifikanten Unterschiede ergaben sich beim HMV (Träger: Mittelwert 4 +/- 1 l/min; Nicht-Träger: Mittelwert 4 +/- 1 l/min), PVR- (Träger: Mittelwert 1177 +/- 630 mmHg/l/min/m²; Nicht-Träger: Mittelwert 1038 +/- 622 mmHg/l/min/m²) und CI-Wert (Träger: Mittelwert 2 +/- 1 l/min/m²; Nicht-Träger: Mittelwert 2 +/- 1 l/min/m²), sowie SO₂ nach Belastung (Träger: Mittelwert 93 +/- 7%; Nicht-Träger: Mittelwert 89 +/- 8%). Diese Ergebnisse sind in den Abbildungen 12, 13, 14 und Tabelle 5 graphisch dargestellt.

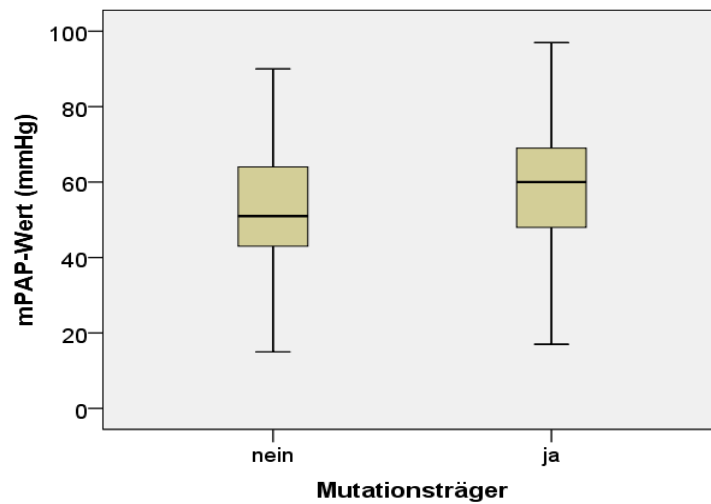


Abbildung 12: mPAP-Wert im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse

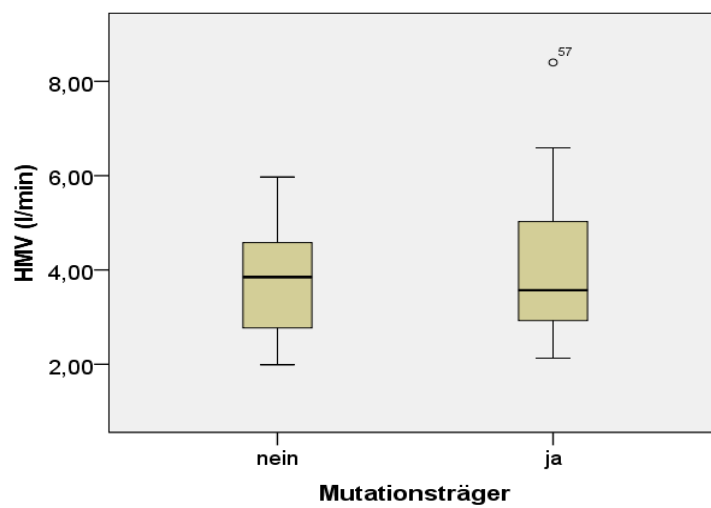


Abbildung 13: HMV im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse

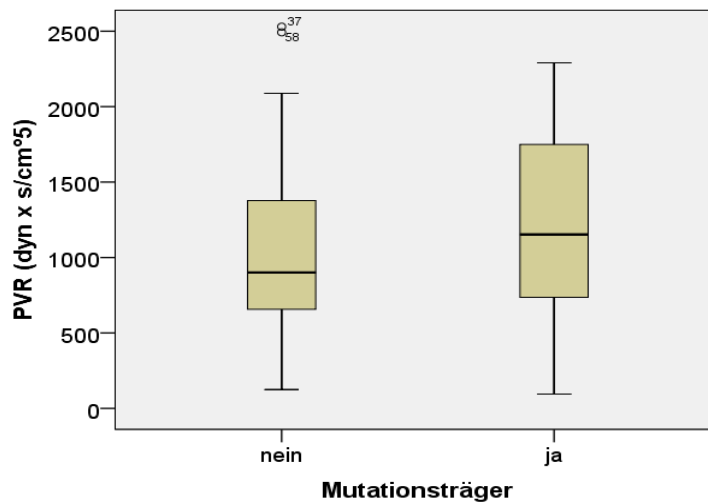


Abbildung 14: PVR im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse

	Mutation	Anzahl	Mittelwert	Standardabweichung	P
BNP	nein	14	388	443	0,06
	ja	20	169	208	
Hb	nein	33	16	2	0,83
	ja	38	16	2	
Natrium	nein	32	140	5	0,66
	ja	38	140	4	
Creatinin	nein	33	1	1	0,76
	ja	38	1	0	
Harnsäure	nein	33	7	3	0,97
	ja	38	7	2	
Borg nach Belastung	nein	29	12	5	0,09
	ja	36	10	5	
So2 nach Belastung	nein	6	89	8	0,40
	ja	11	93	7	
Herzfrequenz	nein	30	80	15	0,85
	ja	38	80	14	
mean PAP	nein	30	52	18	0,29
	ja	38	57	18	
PVR	nein	30	1038	622	0,37
	ja	38	1177	630	
CI	nein	30	2	1	0,57
	ja	37	2	1	
HmV	nein	30	4	1	0,71
	ja	38	4	1	

Tabelle 5: Hämodynamik

3.2 Medikamentöse Therapie der Studienpopulation

In der medikamentösen Therapie der pulmonalen Hypertonie gibt es, wie in Kapitel 1.3 beschrieben, verschiedene, für das jeweilige Stadium der Erkrankung zugelassene Substanzgruppen, die zur Auswahl stehen. Nachfolgend werden die jeweiligen Substanzen in Zusammenschau mit der Mutationsanalyse abgebildet und in einem weiteren Schritt bezüglich ihrer Wirksamkeit in der Studienpopulation in Zusammenhang gebracht. 69 Patienten konnten anhand der vorliegenden Datensätze in die Analyse mit einbezogen werden.

3.2.1 Therapie mit Phosphodiesterase-5-Inhibitoren

3.2.1.1 Therapie mit Sildenafil

Anhand der 69 ausgewerteten Datensätze ergab sich für die Therapie mit Sildenafil folgende Verteilung: 44 Patienten wurden im Beobachtungszeitraum mit Sildenafil (=64%) und 25 Probanden ohne die Substanz (= 36%) behandelt (vgl. auch Abb. 15).

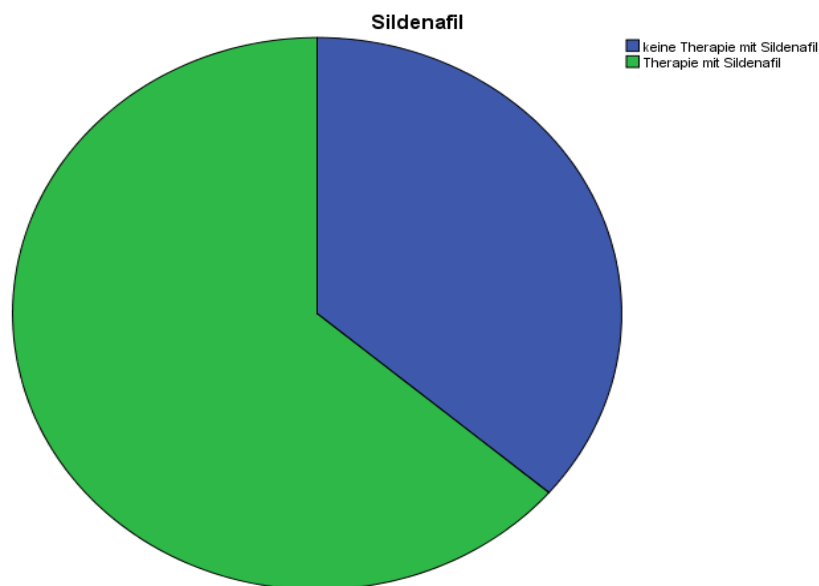


Abbildung 15: Verteilungsmuster Therapie mit Sildenafil

Bei 28 der mit Sildenafil behandelten Probanden (n= 44) konnte eine Mutation nachgewiesen werden, bei 16 Patienten dieser Gruppe fand sich keine Mutation.

In der Gruppe der Patienten ohne Sildenafil in der Therapie (n= 25) wiesen 10

Patienten eine Mutation auf, bei 15 Probanden konnte keine Mutation festgestellt werden.

Die Auswertung der vorhandenen Datensätze ergab, dass bei 11 Patienten keine Angabe über die Therapie vorhanden war. Bezogen auf die Therapie mit Sildenafil in Zusammenhang mit der Mutationsanalyse ergab sich hieraus, dass bei 14% (n=5) der Patienten ohne Mutation und 14 % (n= 6) der Patienten mit Mutation keine Zuordnung zu einer spezifischen Therapie vorlag.

Bei 33 Patienten lag zudem eine Aussage über die Änderung der Gehstrecke im six minute walk unter einer Therapie mit Sildenafil vs. einer unspezifischen Therapie vor. 21 Patienten hiervon waren Träger, 12 Nicht-Träger.

	Mutation	N	Mittelwert	Mittlere Standardabweichung
Absolute Änderung	1	21	36	17
	0	12	6	29
Relative Änderung	1	21	15	9
	0	12	6	8

Tabelle 6: Änderung six minute walk unter Sildenafil-Therapie

Bei den Trägern kam es unter Sildenafil im Mittel um eine Verbesserung des six minute walk von 36 Metern, was einer Verbesserung von 15% entspricht. In der Gruppe der Nicht-Träger konnte lediglich eine Verbesserung von 6 Metern und somit 6% erreicht werden (vgl. Tabelle 6).

Die hier beschriebenen Ergebnisse wurden in den Abbildungen 16 und 17 graphisch aufgearbeitet. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen ergab sich jedoch nicht (P absolut= 0,35; P relativ= 0,53).

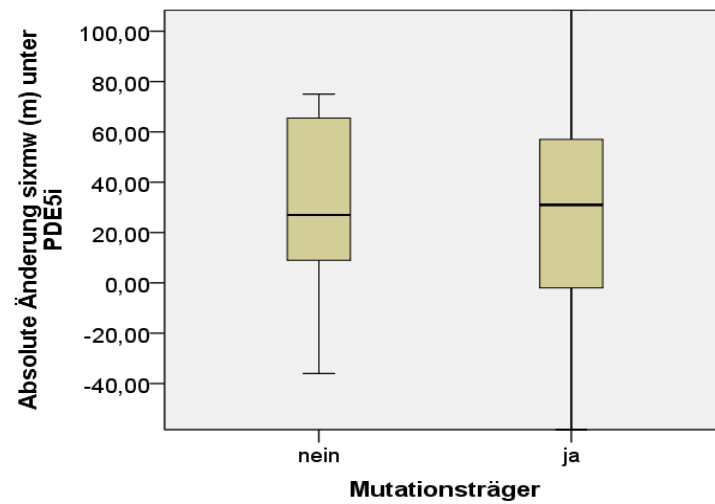


Abbildung 16: Absolute Änderung six minute walk unter PDE5-Inhibitoren

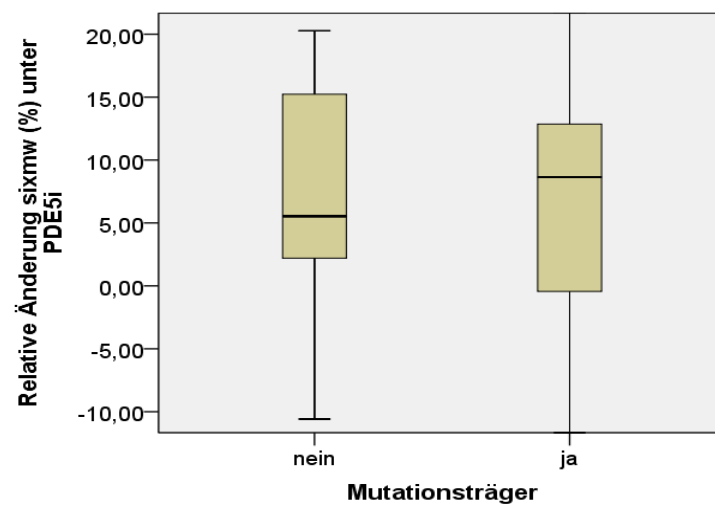


Abbildung 17: Relative Änderung six minute walk unter PDE5-Inhibitoren

3.2.2 Therapie mit Prostazyklin-Analoga

3.2.2.1 Therapie mit Iloprost

Im Beobachtungszeitraum wurden 30 Patienten mit (= 44%) und 39 Patienten ohne Iloprost (= 56%) behandelt (n= 69).

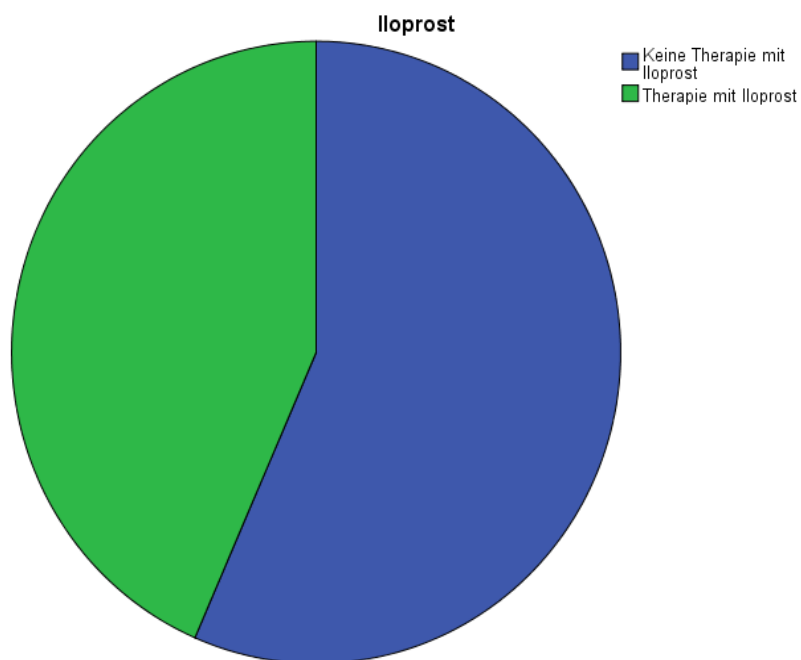


Abbildung 18: Verteilungsmuster Therapie mit Iloprost

In der Gruppe, die mit Iloprost therapiert wurde, konnte bei 15 Probanden eine Mutation nachgewiesen werden, 15 Probanden zeigten diesbezüglich keine Veränderung in der Genetik (n= 30). Die Studienpopulation, die nicht mit Iloprost behandelt wurde, stellte sich bezüglich der Genetik wie folgt dar: 16 Patienten ohne Mutation, 23 Patienten mit Mutation (n= 39).

Bezüglich der Veränderung der Gehstrecke im six minute walk lässt sich anhand der ausgewerteten Datensätze zu 6 Trägern und 7 Nicht-Trägern folgende Aussage machen:

	Mutation	N	Mittelwert	Mittlere Standardabweichung
Absolute Änderung	1	6	76	25
	0	7	78	25
Relative Änderung	1	6	35	20
	0	7	31	12

Tabelle 7: Änderung six minute walk unter Prostazyklin-Analoga

Bei den Mutationsträgern, die mit Prostazyklin-Analoga (in diesem Fall Iloprost) behandelt wurden, änderte sich die Gehstrecke im six minute walk um 76 Meter, wohingegen sich die Gehstrecke der Nicht-Träger um 78 Meter veränderte ($P = 0,95$). Somit erreichten die Träger eine Verbesserung um 35% sowie 31% bei den Nicht-Trägern ($P = 0,88$). Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen konnte somit auch hier nicht erreicht werden.

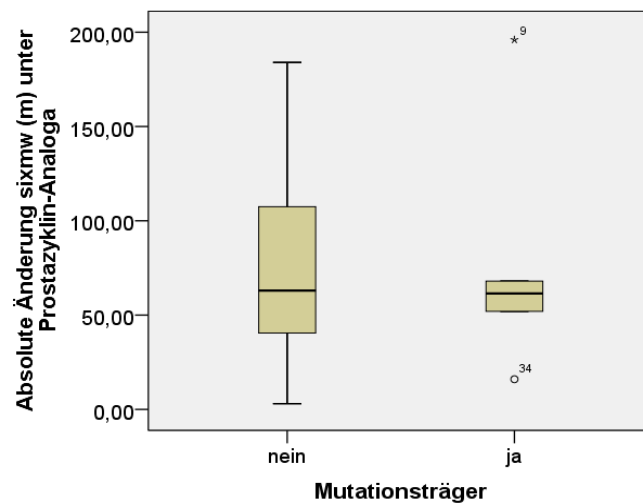


Abbildung 19: Absolute Änderung six minute walk unter Prostazyklin-Analoga

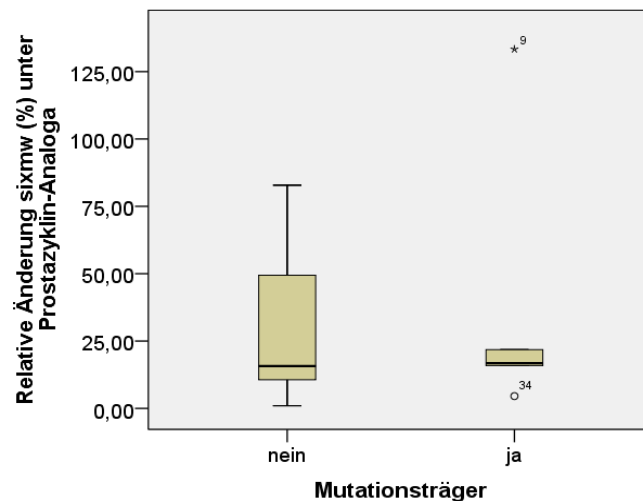


Abbildung 20: Relative Änderung six minute walk unter Prostazyklin-Analoga

3.2.3 Therapie mit Endothelin-Rezeptor-Antagonisten

3.2.3.1 Therapie mit Bosentan

Wie in Abbildung 21 abgebildet, wurden im Beobachtungszeitraum 20 Patienten mit Bosentan (= 29%) und 49 Patienten ohne das Medikament (= 71%) behandelt (n= 69).

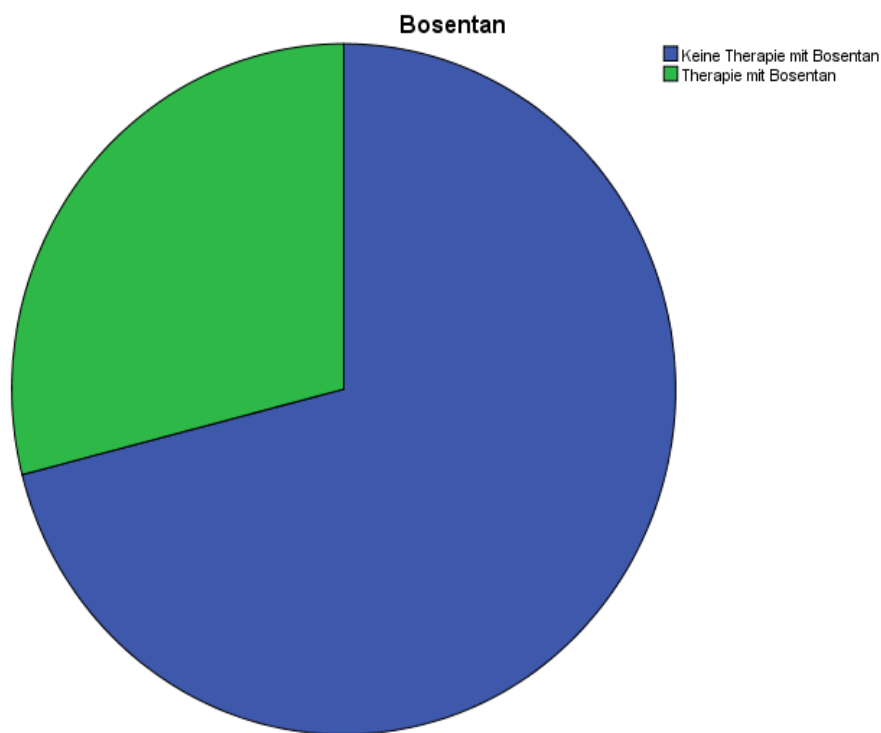


Abbildung 21: Verteilungsmuster Therapie mit Bosentan

Aus der Gruppe, die mit Bosentan therapiert wurde, wiesen 11 Probanden eine Mutation auf, 9 der Patienten waren bezüglich der Genetik unauffällig (n= 20). In der Studienpopulation, die nicht mit Bosentan therapiert wurde, konnte bei 27 Patienten eine Mutation festgestellt werden, 22 Patienten waren in der Analyse diesbezüglich unauffällig (n= 49).

3.2.3.2 Therapie mit Sitaxentan

Im Beobachtungszeitraum wurden 5 Patienten mit (= 7%) und 64 Patienten ohne Sitaxentan (= 93%) behandelt (n= 69). Dies wurde in der Abbildung 22 verdeutlicht.

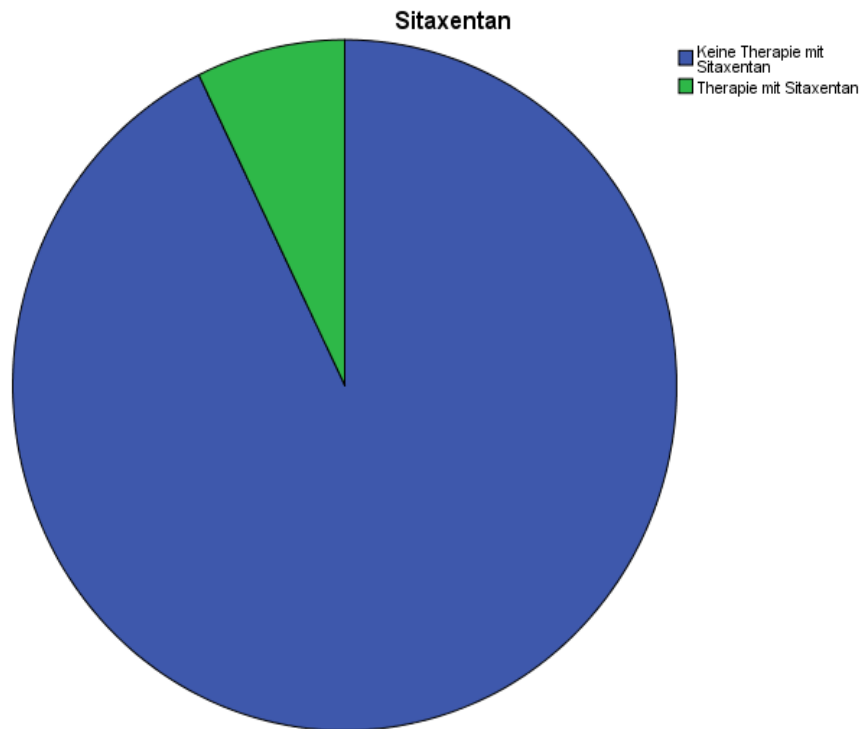


Abbildung 22: Verteilungsmuster Therapie mit Sitaxentan

In der Studienpopulation, die mit Sitaxentan therapiert wurde, wiesen 2 Patienten eine Mutation auf, 3 Patienten nicht (n= 5). In der Gruppe ohne Sitaxentan-Therapie wurde bei 36 Patienten eine Mutation nachgewiesen, 28 Patienten waren diesbezüglich unauffällig (n= 64).

3.2.3.3 Therapie mit Ambrisentan

Im Beobachtungszeitraum wurden 4 Patienten mit (= 6%) und 65 Patienten ohne Ambrisentan (= 94%) behandelt (n= 69) (vgl. Abbildung 23).

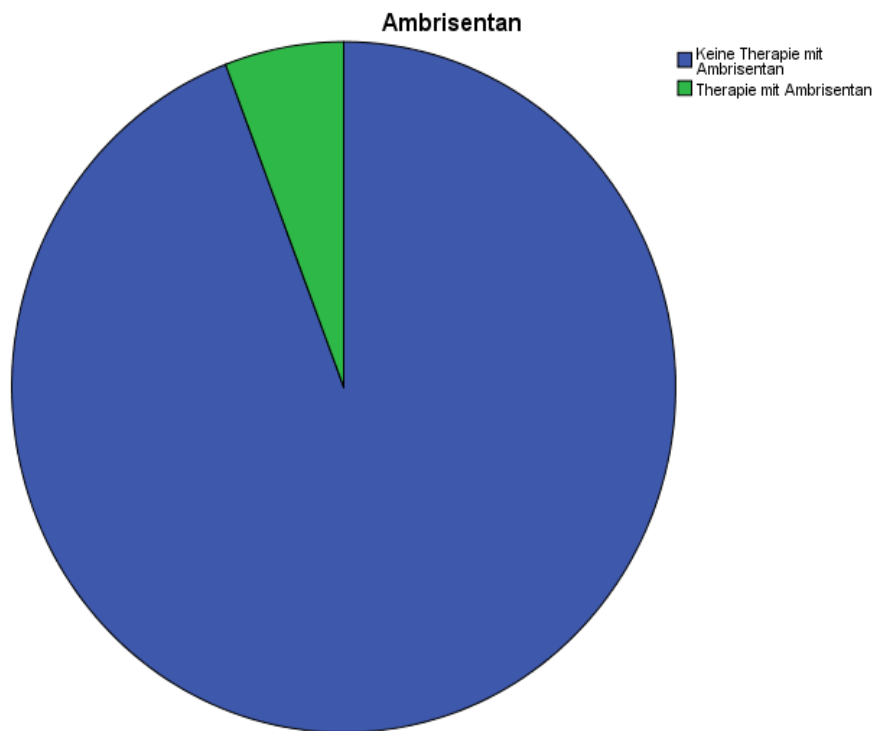


Abbildung 23: Verteilungsmuster Therapie mit Ambrisentan

In der Studienpopulation, die mit Ambrisentan therapiert wurde, konnte bei 3 Patienten eine Mutation festgestellt werden, bei 1 Patienten nicht (n= 4).

In der Gruppe, die ohne Ambrisentan behandelt wurde, wiesen 35 Patienten eine Mutation auf, 30 Patienten nicht (n= 65).

3.2.3.4 Veränderung des six minute walk unter Endothelin-Rezeptor-Antagonisten

Bezüglich der Veränderung des six minute walk unter einer Therapie mit Endothelin-Rezeptor-Antagonisten (ERA) lagen lediglich für 9 Träger und 8 Nicht-Träger vollständige Datensätze vor. Hierbei ergab sich folgende Verteilung: Die durchschnittliche Veränderung der Gehstrecke beim six minute walk lag unter einer Therapie mit Endothelin-Rezeptor-Antagonisten bei den Trägern bei 69 Metern, bei den Nicht-Trägern bei 59 Metern (P= 0,79). Die relative Änderung betrug bei den

Trägern 24% und 26% bei den Nicht-Trägern ($P= 0,92$). Dieses Ergebnis wird in den Abbildungen 24 und 25, sowie in der Tabelle 8 veranschaulicht.

	Mutation	N	Mittelwert	Mittlere Standardabweichung
Absolute Änderung	1	9	69	29
	0	8	59	25
Relative Änderung	1	9	24	12
	0	8	26	11

Tabelle 8: Änderung des six minute walk unter Endothelin-Rezeptor-Antagonisten

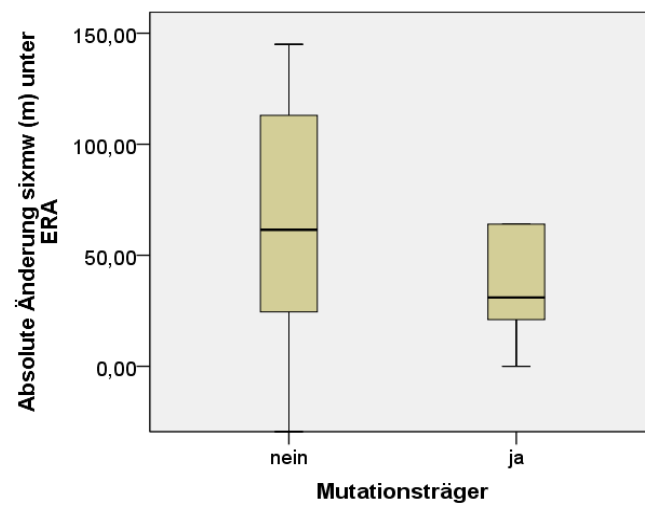


Abbildung 24: Absolute Änderung six minute walk unter ERA

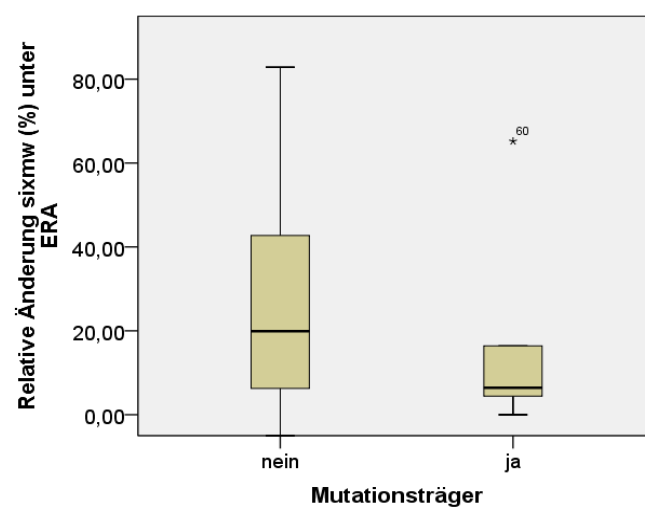


Abbildung 25: Relative Änderung six minute walk unter ERA

3.3 Klinischer Verlauf

Während der Studie wurden die Patienten in regelmäßigen Abständen bezüglich ihrer physischen Konstitution und ihrer Befindlichkeit untersucht. Die Auswertung der gewonnenen Daten ergab, dass im Beobachtungszeitraum 63 Patienten (79%, n= 70) eine Verschlechterung erfuhren, wohingegen bei nur 7 Patienten (9%) keine Progression der Erkrankung festzustellen war. Die Ergebnisse sind ebenfalls der Tabelle 9 zu entnehmen.

	Anzahl	Prozent
Keine Verschlechterung	7	9%
Verschlechterung	63	79%
Kohorte mit Informationen	70	88%
Fehlende Informationen	10	12%
gesamt	80	100%

Tabelle 9: Klinische Verschlechterung

Zudem wurden die Todesfälle im Beobachtungszeitraum aufgezeichnet und ausgewertet. Hierbei zeigte sich, wie in Tabelle 10 verdeutlicht, dass 68 % (54 Patienten, n= 71) der Patienten bei Beendigung der Studie noch am Leben waren und 21% (17 Patienten) im Beobachtungszeitraum verstorben sind. Über 9 Patienten konnte diesbezüglich keine Aussage mehr getroffen werden (11%; Lost to follow up).

		Am Studienende	Anzahl	Prozent
verstorben	nein	Lebend	54	68%
	ja	Verstorben	17	21%
	total	Kohorte mit Informationen	71	89%
fehlend		Fehlende Informationen	9	11%
Gesamt			80	100%

Tabelle 10: Verstorbene Patienten

3.3.1 Zusammenhang der Überlebenszeit mit der Mutationsanalyse

Ziel der Studie war es, einen Zusammenhang zwischen der Mutation des BMPR2-Gens und dem klinischen Verlauf bzw. der Überlebenszeit der betroffenen Patienten zu finden.

In der hier untersuchten Studienpopulation ergab sich eine 1-Jahres-Überlebensrate

der Nicht-Träger von 100% und 97% der Träger. Die 2-Jahres-Überlebensrate der Träger lag bei 95% im Vergleich zu 97% der Nicht-Träger. Die 3-Jahres-Überlebensrate der Träger ist mit 91%, die der Nicht-Träger mit 89% anzugeben. Die 5-Jahresüberlebensrate lag bei den Trägern bei 83%, die der Nicht-Träger bei 73%. ($P=0,59$).

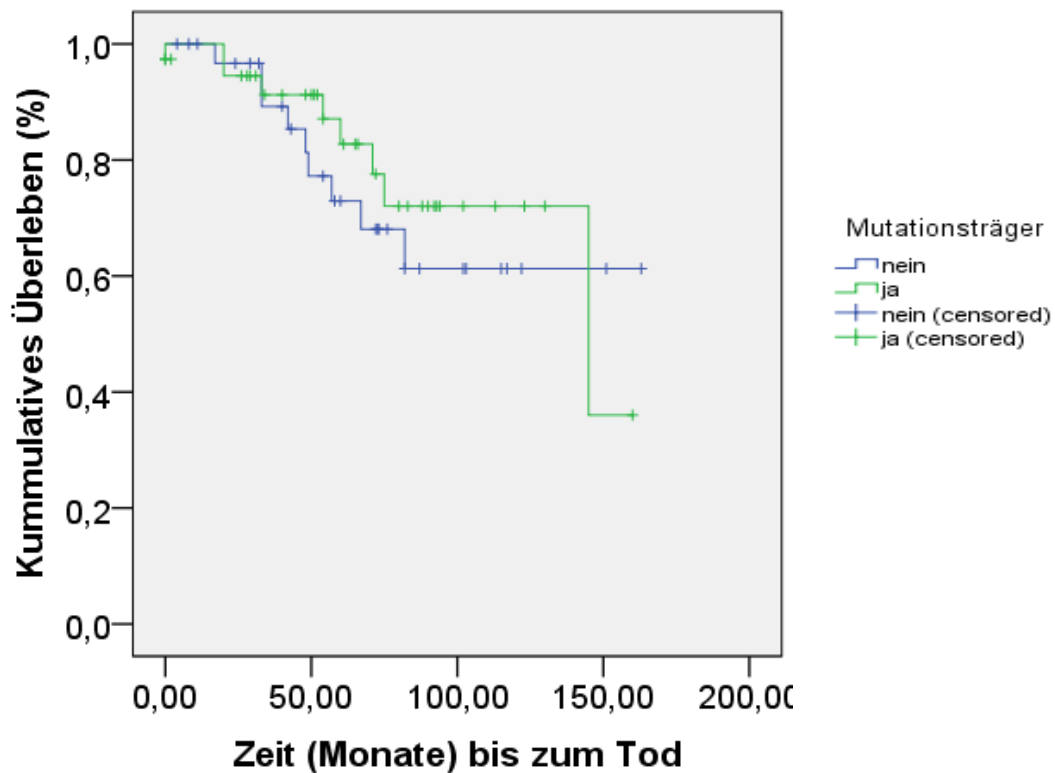


Abbildung 26: Timo to death

Nachfolgende Abbildung (Abbildung 27) verdeutlicht im Vergleich die Zeit bis zur klinischen Verschlechterung der gesamten Studienpopulation.

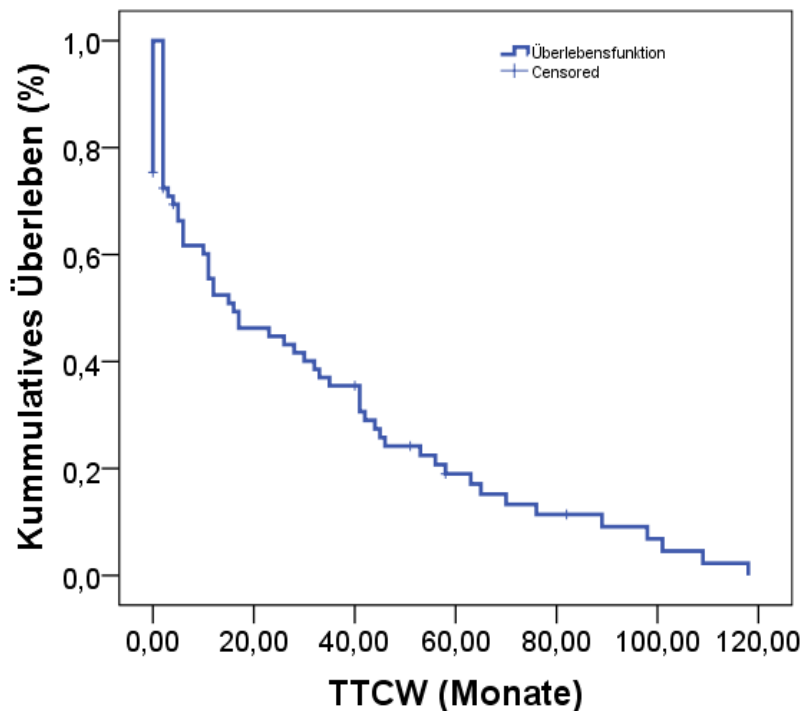


Abbildung 27: Time to clinical worsening der gesamten Studienpopulation

Zudem wurde untersucht, bei wie vielen Patienten es im Beobachtungszeitraum zu einer klinischen Verschlechterung (= Event) gekommen ist und ob diese sich in beiden Gruppen (Träger vs. Nicht-Träger) gleichmäßig verteilt. Die Ergebnisse hierzu sind in Tabelle 11 zusammengestellt.

Mutation	N gesamt	N Events
nein	31	27
ja	38	35
gesamt	69	62

Tabelle 11: Number of events

Insgesamt lagen 69 komplette Datensätze über eine klinische Verschlechterung bis zum Ende des Beobachtungszeitraums vor, worunter 62 Patienten eine Verschlechterung erlitten. Unter diesen befanden sich 31 Träger, sowie 38 Nicht-Träger. Von den insgesamt 31 Nicht-Trägern kam es bei 27 Patienten zu einem Event (= 87%). Unter den 38 Trägern zeigte sich bei 35 Patienten eine Verschlechterung (= 92%).

Nach 12 Monaten hatten 19 Träger (= 61%) und 13 Nicht-Träger (= 34%) eine

Verschlechterung erfahren, sowie 22 Träger (= 71%) und 15 Nicht-Träger (= 40%) nach 24 Monaten Beobachtungszeitraum. Nach 5 Jahren (60 Monaten) kam es bei insgesamt 30 Trägern (= 97%) und 23 Nicht-Trägern (= 61%) zu einer Verschlechterung.

Die unten aufgeführte Abbildung (Abbildung 28) zeigt die Zeit beider Gruppen (Träger vs. Nicht-Träger), die bis zur klinischen Verschlechterung in Bezug auf die Überlebenszeit verging.

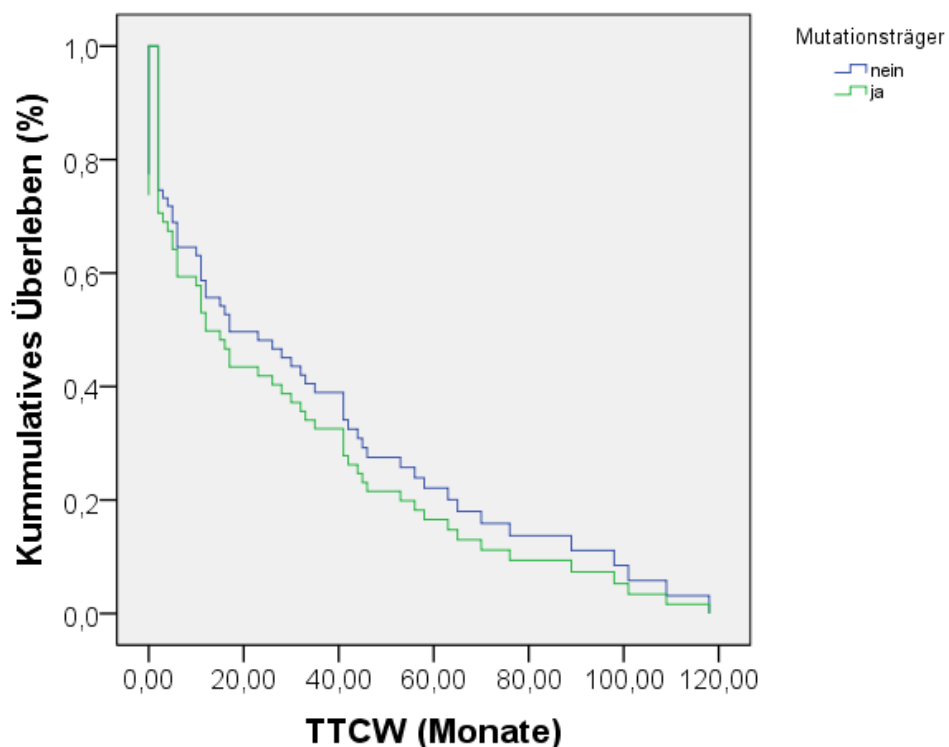


Abbildung 28: Time to clinical worsening in Abhängigkeit von der Mutationsanalyse

Ein signifikanter Unterschied zwischen der TTCW der Träger und der Nicht-Träger ist nicht zu erkennen ($P=0,48$).

4 Diskussion

4.1 Zielsetzung und Zusammenfassung der wichtigsten Resultate

Das primäre Ziel der vorliegenden Studie war es herauszufinden, ob das Vorliegen einer Mutation im BMPR2-Gen mit einer klinischen beziehungsweise therapeutischen Relevanz einhergeht, um durch eine Genanalyse in der Zukunft einen klinischen Nutzen ziehen zu können. Somit sollte gezeigt werden, ob sich das klinische Outcome von Trägern und Nicht-Trägern unterscheidet. Eine weitere Hypothese der Studie war es, dass Träger schwerer oder früher erkranken als Nicht-Träger.

Die 80 in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden auf Mutationen im BMPR2-Gen getestet sowie allgemeine Informationen wie Alter bei Diagnosestellung, Geschlechterverteilung und Diagnose erfasst. Zudem wurden die Untersuchungsergebnisse der Patienten im six minute walk, Rechtsherzkatheteruntersuchungen, NYHA-Klassifikation, laborchemischen Untersuchungen und der medikamentöser Therapieform aufgezeichnet und in Bezug auf die Ergebnisse der Mutationsanalyse miteinander verglichen.

Bezogen auf das Alter der Patienten bei Diagnosestellung konnte gezeigt werden, dass Mutationsträger früher und jünger erkranken als Nicht-Mutationsträger ($P=0,17$). Zu diesem Ergebnis kam ebenfalls die Studie von Pfarr et al. (52). Bezüglich der NYHA-Stadien erwies sich, dass Träger ein signifikant niedrigeres NYHA-Stadium aufwiesen als Nicht-Träger ($P=0,05$). Dieses Ergebnis, ebenso wie die Erkenntnis, dass Träger eine leicht verlängerte Überlebensrate aufwiesen als Nicht-Träger ($P=0,59$), steht im Gegensatz zu den Ergebnissen der Studie von Sztrymf et al. (24), bei der Träger signifikant jünger starben als Nicht-Träger.

Während der Rechtsherzkatheteruntersuchung wurden zudem die mPAP-Werte beider Gruppen miteinander verglichen. Hierbei wurde festgestellt, dass Träger höhere Werte aufwiesen als Nicht-Träger ($P=0,29$). Dieses Ergebnis deckt sich mit der Studie von Pfarr et al. (52), in welcher herausgefunden wurde, dass Mutationsträger mit größeren hämodynamischen Einschränkungen leben müssen als Nicht-Mutationsträger. Zudem profitierten die Mutationsträger mehr von einer spezifischen Therapie mit Sildenafil und wiesen eine deutlichere Verbesserung im six minute walk auf (15%), als die Nicht-Träger (6%).

4.2 Patientenauswahl

Die in die Studie eingeschlossenen Patienten spiegeln in Bezug auf das Durchschnittsalter und die Geschlechterverteilung eine für die pulmonale Hypertonie typische Verteilung wieder. Im Vergleich zu anderen Studien dieser Art fanden sich sehr ähnliche Daten (z.B. Pfarr et al., 2011 (52); Sztrymf et al., 2008 (24); Gaine und Rubin, 1998 (12)). Auch die Verteilung auf die verschiedenen Untergruppen der pulmonalen Hypertonie erwies sich als mit den genannten Studien vereinbar.

4.3 Geschlechterverteilung bei pulmonaler Hypertonie

Die Mehrheit der Patienten, die in die Gießener Kohorte eingeschlossen wurden, waren Frauen. Bei einer Studienpopulation von 80 Patienten waren 55 Probanden weiblich (=69%) und 25 Probanden männlich (=31%). Im Vergleich hierzu ergab sich bei Sztrymf et al. (24) ein ähnliches Bild. Auch in deren Kohorte ergab sich eine höhere Anzahl erkrankter Frauen als Männer. Die Rate weiblicher zu männlicher Betroffener lag dort bei 1,7. In einer 2012 veröffentlichten Studie von Larkin (47) lag das Geschlechterverhältnis bei 3 Frauen zu 1 Mann. Dieses Ergebnis stimmt ebenfalls mit den Forschungsergebnissen von Gaine und Rubin (12) überein, die herausfanden, dass mehr Frauen als Männer an einer pulmonalarteriellen Hypertonie erkrankten. In der Studienpopulation von Benza (60) waren 77% (n= 628) der Studienpopulation weiblichen Geschlechts. Auch in der Studie von Lui (50) waren lediglich 87 der 290 Patienten Männer.

Zusammenfassend können wir diese Ergebnisse in der Gießender Kohorte ebenfalls bestätigen.

4.4 Vorliegen einer Mutation im BMPR2-Gen

Die hier vorliegende Studie konnte zeigen, dass bei 44 der an pulmonaler Hypertonie erkrankten Patienten der Kohorte (= 55%) eine Mutation im BMPR2-Gen vorliegt. Bei 36 der untersuchten Patienten wurde keine diesbezügliche Mutation nachgewiesen (=45%). Insbesondere unter den IPAH-Patienten (n= 56) wurden 33 Träger (= 59%) entdeckt.

In ähnlichen Studien wurde gezeigt, dass bis zu 20% der IPAH-Patienten eine Mutation im BMPR2-Gen aufweisen (z.B. Aldred MA, 2006 (25); Cogan JD, 2006 (34); Thomson JR, 2000 (26); Humbert et al., 2009 (61)). Sztrymf fanden im Jahre 2007 heraus, dass eine solche Mutation bei bis zu 26% der IPAH-Patienten auftritt (35). In einer Studie

von Pfarr et al. (52) konnten bei 14% der IPAH-Patienten eine Mutation im besagten Gen festgestellt werden. Verglichen mit diesen Studien lagen die Ergebnisse der Gießener Kohorte diesbezüglich sogar noch deutlich höher.

4.5 Alter und Diagnosedatum

Das Alter bei Diagnosestellung lag bei den Mutationsträgern in der Gießener Kohorte (Mittelwert 41 +/- 14 Jahre) unter dem der Nicht-Mutationsträger (Mittelwert 46 +/- 16 Jahre) ($P = 0,17$). Dieses Ergebnis könnte für eine schnellere Progression, sowie einen früheren Symptombeginn sprechen. Auch das Datum der Diagnosestellung lag bei den Trägern (Mittelwert 03/2003) unter dem der Nicht-Träger (Mittelwert 09/2004). Ergebnisse anderer Autoren ergaben, dass das Erkrankungsalter, beziehungsweise das Alter bei Diagnosestellung, im Bereich zwischen 36 und 50 Jahren (51) lag. Das Ergebnis deckt sich mit dem der 2011 veröffentlichten Studie von Pfarr (52). Dort wurde ebenfalls beschrieben, dass die Mutationsträger bei Diagnosestellung signifikant jünger waren, im Mittel bis zu 10 Jahre, als die Patienten ohne Mutation. Auch in der Studie von Sztrymf (24) zeigte sich ein signifikanter Unterschied im Alter bei Diagnosestellung (Träger 35 vs. 46 Jahre bei den Nicht-Trägern). Diese Ergebnisse decken sich ebenfalls mit der Studie von Humbert aus dem Jahre 2006 (62), sowie mit der 2012 veröffentlichten Studie von Liu (50) und zeigen ebenfalls den Trend aus der hier vorgestellten Arbeit.

Ursächlich für das hier dargestellte nicht-signifikante Ergebnis, dass Träger bei Diagnosestellung jünger waren als Nicht-Träger, könnte eine zu kurze Beobachtungszeit sein. Eine im Jahre 2012 veröffentlichte Studie von Larkin (47) legt jedoch die Vermutung nahe, dass nur ein signifikanter Unterschied im Alter bei der Diagnosestellung gefunden werden kann, solange ein kurzer Beobachtungszeitraum (in der Studie unter 57 Jahre) eingehalten wurde. Beobachtungszeiträume darüber erbrachten diesbezüglich keine signifikanten Unterschiede, so dass die genetische Antizipation als mögliches Artefakt aufgrund eines unzureichenden Beobachtungszeitraums dargestellt wurde (47).

4.6 NYHA-Klassifikation

In einem Teil der Patienten ($n = 66$) wurden die NYHA-Stadien ermittelt. Hierbei zeigte sich, dass 1,3% (1 Proband) NYHA-Stadium I, 16,3% (entspricht 13 Patienten) Stadium II, 50% (entspricht 40 Patienten) Stadium III und 15% (entspricht 12

Patienten) Stadium IV aufwiesen. In der Studie von Humbert (63) ergab sich bei einer Studienpopulation von $n = 190$ eine ähnliche Verteilung: Stadium I-II: 17,4%, Stadium III: 68,4% und Stadium IV: 14,2%. In der 2011 veröffentlichten Studie ($n = 811$) von Benza (60) ergab sich folgende Verteilung: NYHA II: 16% ($n = 126$), NYHA III: 76% ($n = 614$) und NYHA IV: 9% ($n = 71$). Somit lassen sich die in Gießen gewonnenen Ergebnisse gut mit den Ergebnissen aus den bisherigen Studien vergleichen. Hierbei kann festgehalten werden, dass die Ergebnisse in Bezug auf die Gesamtstudienpopulation übereinstimmen.

Verglichen mit dem Ergebnis der Genanalyse konnte in der hier vorgestellten Untersuchung gezeigt werden, dass Patienten mit einer Mutation im BMPR2-Gen im Mittel ein NYHA-Stadium von 2,7 aufwiesen (1 Patient NYHA I, 10 Patienten NYHA II, 21 Patienten NYHA III und 3 Patienten NYHA IV), wohingegen Patienten ohne Mutation ein höheres Stadium (Mittelwert 3,2) zeigten (0 Patienten NYHA I, 3 Patienten NYHA II, 19 Patienten NYHA III und 9 Patienten NYHA IV). Somit konnte gezeigt werden, dass Mutationsträger ein signifikant niedrigeres NYHA-Stadium ($P = 0,05$) und damit einen besseren funktionellen Status aufweisen als Nicht-Träger. In Studien mit einer Mutationsanalyse ergab sich bei Pfarr et al. (52) bei einer Studienpopulation von $n = 228$ ein NYHA-Stadium bei den Trägern von III-IV ($n = 49$) und II-IV bei den Nicht-Trägern. Aus der Untersuchung von Sztrymf et al. (24) ergibt sich folgende Verteilung ($n = 223$): NYHA-Stadium I: 0% der Nicht-Träger, 3% der Träger; Stadium II: 16% der Nicht-Träger, 11% der Träger; NYHA III: 74% der Nicht-Träger, 69% der Träger; NYHA IV: 10% der Nicht-Träger, 17% der Träger. Somit wiesen die Träger im Mittel ein höheres NYHA-Stadium (Mittelwert 3,0) auf, als die Nicht-Träger (Mittelwert 2,9). Dieses Ergebnis, sowie das von Pfarr (52) steht in Widerspruch zu dem aus der hier vorgestellten Arbeit und lässt Raum für die Annahme, dass das hier verwendete Patientenkollektiv in der Gruppe der Mutationsträger gesünder war als die Vergleichsgruppen in den zuvor genannten Studien, beziehungsweise die Nicht-Mutationsträger beim Studieneinschluss bereits schwerer erkrankt waren als in den oben genannten Vergleichsstudien. Zudem lag das Alter bei Diagnosestellung der Träger 5 Jahre unter dem der Nicht-Träger, was ebenfalls bei einem jüngeren Träger-Kollektiv die besseren Ergebnisse im Bereich des funktionellen Status erklären könnte.

4.7 Six minute walk und Hämodynamik

Zur Einordnung der subjektiv gewonnen Eindrücke wurden von den Patienten im Verlauf der Studie objektive Marker gewonnen, um die Ergebnisse mit anderen Studien

vergleichen und einordnen zu können. Ein gutes Maß für die Belastbarkeit der Patienten ist, wie in Kapitel 2.2 beschrieben, der six minute walk.

In der Gießener Kohorte ergab sich für die Nicht-Träger eine Gehstrecke von 371 +/- 134 m und für die Träger eine Gehstrecke von 431 +/- 137 m. Somit lag die Gehstrecke der Träger weit über der der Nicht-Träger ($P=0,07$). In ähnlich angelegten Studien, wie zum Beispiel in der Untersuchung von Sztrymf (24) lag die durchschnittlich zurückgelegte Wegstrecke der Nicht-Träger bei 328 +/- 120 m und die der Träger bei 351 +/- 106 m ($P=0,21$). Dieses Ergebnis zeigt eine leicht bessere Leistungsfähigkeit der Träger im Vergleich zu den Nicht-Trägern. In den Ergebnissen der Gießener Kohorte ist diese Tendenz jedoch noch deutlich stärker ausgeprägt. Dieses Ergebnis erstaunt jedoch nicht, da die Träger sowohl in der Studie von Sztrymf (24), als auch in der hier vorgestellten Arbeit, jünger waren (35 und 41 Jahre) als die Nicht-Träger (jeweils 46 Jahre) und somit aufgrund eines niedrigeren Lebensalters einen besseren funktionellen Status aufwiesen und weitere Gehstrecken zurücklegten. Zu vermuten ist, dass die Träger in den jeweiligen Kollektiven altersbedingt weniger Komorbiditäten aufwiesen und aus diesem Grund eine längere Gehstrecke bewältigen konnten. Zusammenfassend können wir somit die Ergebnisse der französischen Studie (24) in der Gießener Kohorte bestätigen und die dort dargestellte Tendenz noch verdeutlichen.

In Bezug auf den Natrium-Wert zeigte sich, dass Nicht-Träger einen Mittelwert von 140 +/- 5 mmol/l aufwiesen und Träger einen Mittelwert von 140 +/- 4 mmol/l. Beim Hämoglobin-Wert lag der Mittelwert der Nicht-Träger bei 16 +/- 2 g/dl und der der Träger bei 16 +/- 2 g/dl. Der Mittelwert beim Kreatinin-Wert lag bei den Nicht-Trägern im Mittel bei 1 +/- 0,5 mg/dl und bei den Trägern bei 1 +/- 0 mg/dl. Beim Harnsäurespiegel im Blut wurden folgende Werte ermittelt: Nicht-Träger 7 +/- 3 mg/dl, Träger 7 +/- 2 mg/dl. Somit ergeben sich bei den oben genannten Laborparametern keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Bislang sind jedoch keine groß angelegten Studien hierzu durchgeführt worden, sodass diesbezüglich keine richtungsweisende Aussage zu treffen ist.

In Bezug auf den BNP-Wert konnte in der Gießener Kohorte gezeigt werden, dass die Nicht-Träger deutlich höhere Werte (Mittelwert 388 +/- 443 pg/ml) aufwiesen als die Träger (Mittelwert 169 +/- 208 pg/ml) ($P=0,06$). Laut der Studie von Mauritz (64) geht ein erhöhter (pro-) BNP-Wert bei Diagnosestellung mit einer höheren Mortalität einher und ist bei schwerer erkrankten Patienten zu finden. Somit sprechen die hier vorgestellten Ergebnisse dafür, dass die Nicht-Träger schwerer erkrankt sind als die

Träger und ein schlechteres Outcome (Mortalität als Outcomeparameter) aufweisen als die Träger, was sich mit den signifikant schlechteren Ergebnissen der Nicht-Träger im NYHA-Stadium (Nicht-Träger 3,2 vs. Träger 2,7; $P=0,05$), sowie den schlechteren Ergebnissen im six minute walk (Nicht-Träger 371 m vs. Träger 421 m) deckt. Bezüglich der Mortalität stehen die hier gewonnenen Daten im Widerspruch zur Aussage von Mauritz (64), wie in Absatz 4.8 nachzulesen. Um ein abschließendes Urteil abgeben zu können, werden jedoch noch weitere Studien notwendig sein.

Des Weiteren wurde eine Rechtsherzkatheteruntersuchung durchgeführt und die für die pulmonale Hypertonie relevanten Daten erhoben. Der Mittelwert des mPAP lag bei den Nicht-Trägern bei 52 ± 18 mmHg, bei den Trägern bei 57 ± 18 mmHg ($P=0,29$). Der CI lag bei den Nicht-Trägern bei 2 ± 1 l/min/m² und bei den Trägern bei 2 ± 1 l/min/m² ($P=0,57$). Das Herzminutenvolumen lag bei den Nicht-Trägern bei 4 ± 1 l/min, bei den Trägern bei 4 ± 1 l/min ($P=0,71$). Der PVR-Wert lag im Mittel bei den Nicht-Trägern bei 1038 ± 622 mmHg/l/min/m² und bei den Trägern bei 1177 ± 630 mmHg/l/min/m² ($P=0,37$). Somit ergab sich auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen Mutationsträgern und Nicht-Mutationsträgern.

In der Studie von Sztrymf (24) lag der mPAP-Wert der Nicht-Träger mit 56 ± 13 mmHg signifikant ($P < 0,0001$) unter dem der Träger (64 ± 13 mmHg). Der CI-Wert der französischen Studie lag bei den Nicht-Trägern bei $2,5 \pm 0,7$ l/min/m², sowie bei den Trägern bei $2,1 \pm 0,7$ l/min/m² ($P=0,0005$). Die venöse Sauerstoffsättigung lag im Durchschnitt bei den Nicht-Trägern bei $63 \pm 9\%$, sowie bei den Trägern bei $59 \pm 9\%$ ($P=0,02$). Der PVR-Wert wurde in diesem Zusammenhang mit $12,7 \pm 6,6$ mmHg/l/min/m² bei den Nicht-Trägern und mit $17,4 \pm 6,1$ bei den Trägern hochsignifikant ($P < 0,0001$) angegeben. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Träger der Studienpopulation der französischen Studie (24) mit signifikant mehr hämodynamischen Einschränkungen leben mussten als die Nicht-Träger. Die hier dargestellten Ergebnisse von Sztrymf (24) decken sich mit denen der erst kürzlich veröffentlichten Studie von Pfarr (52), die besagt, dass BMPR2-Mutationsträger mit stärkeren hämodynamischen Einschränkungen leben müssen als solche Patienten ohne Mutation.

In der oben genannten Studie von Pfarr (52) wurden ebenfalls einige der von uns untersuchten Daten erhoben. Hierbei ergab sich folgende Verteilung: mPAP Nicht-Träger: 53 ± 12 mmHg, Träger: 63 ± 10 mmHg ($P < 0,005$); CI Nicht-Träger: $2 \pm 0,5$ l/min/m², Träger: 2 ± 0 l/min/m² ($P < 0,005$); PVR Nicht-Träger: 1000 ± 457 mmHg/l/min/m², Träger: 1519 ± 75 mmHg/l/min/m² ($P < 0,005$). Auch in dieser

Studienpopulation zeigten die Träger somit signifikant höhere hämodynamische Werte als Nicht-Träger und somit vermehrt massive Einschränkungen ihrer Belastbarkeit. Abschließend können wir diese Ergebnisse in der Gießener Kohorte nicht bestätigen.

Eine Studie von Dewachter aus dem Jahre 2009 mit einer geringen Anzahl an Patienten (n=28) kam zu dem Ergebnis, dass sich keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die hämodynamischen Parameter bei Trägern und Nicht-Trägern finden lassen (65). Dieses Ergebnis deckt sich mit dem aus der hier vorgestellten Gießener Kohorte.

4.8 Medikamentöse Therapie

In unserer Studie wurden auch die verwendeten medikamentösen Therapien in Bezug auf den Mutationsstatus miteinander verglichen. Von den insgesamt 69 Probanden, bei welchen eine Aussage über die Therapie getroffen werden konnte, wurden 64% (n=44) der Patienten mit Sildenafil therapiert. In diesem Kollektiv wiesen 28 Patienten eine Mutation auf, wohingegen bei 16 Patienten keine Mutation zu finden war. Die Wirksamkeit einer Therapie bei pulmonaler Hypertonie mit Sildenafil konnte bereits in zahlreichen Studien belegt werden, wie zum Beispiel die 2011 veröffentlichte Studie von Rubin (66), welche die gute Wirksamkeit bei einer Langzeitbehandlung zeigen konnte. Ähnliche Ergebnisse wurden in der Studie von Galiè 2005 über einen Behandlungszeitraum von 12 Wochen erzielt (67).

Zur Überprüfung der These, dass Mutationsträger eher von einer spezifischen Therapie profitieren, wurde die Gehstrecke im six minute walk als Messgröße für den Therapieerfolg verwendet und die gewonnenen Daten diesbezüglich untersucht. In der hier vorgestellten Arbeit kam es in der Gruppe der Mutationsträger unter einer spezifischen Therapie mit Sildenafil zu einer Verbesserung der Gehstrecke im six minute walk um 15% (= 35,7 Meter), bei den Nicht-Mutationsträgern um 6% (= 6,1 Meter) (P= 0,53). Somit wird angenommen, dass Träger mehr von einer Therapie mit PDE5-Inhibitoren profitieren als Nicht-Träger. Diese Annahme muss jedoch noch durch geeignete Therapiestudien bewiesen werden. Bislang existieren diesbezüglich keine aussagekräftigen Daten, die diese These stützen oder anfechten.

Des Weiteren wurden 44% (n= 30) der Patienten aus der Gießener Kohorte mit dem Prostazyklin-Analogon Iloprost behandelt. Die klinische Wirksamkeit von Iloprost wurde bereits 2000 in einer Langzeit-Studie von Hoeper (68), sowie in der 2009 von Jing (69)

veröffentlichten Studie festgestellt. Bei 15 der in Gießen mit Iloprost behandelten Patienten konnte ebenfalls eine Mutation im BMPR2-Gen festgestellt werden.

In der mit Iloprost behandelten Patientengruppe kam es bei den Trägern zu einer Verbesserung der Gehstrecke im six minute walk um 35% (= 76 Meter), sowie um 31% (= 78 Meter) bei den Nicht-Trägern ($P= 0,88$). Somit profitieren in dieser Kohorte die Träger nicht wesentlich mehr als die Nicht-Träger von einer Therapie mit Prostazyklin-Analoga.

Eine weitere Substanzgruppe in der Therapie der pulmonalen Hypertonie stellen die Endothelin-Rezeptor-Antagonisten dar. In der Gießener Studienpopulation wurde die Therapie mit den Substanzen Bosentan, Sitaxentan und Ambrisentan durchgeführt. In der Gruppe der Patienten mit einer Bosentan-Therapie ($n= 20$) wurde bei 11 dieser eine Mutation festgestellt, bei 9 Patienten handelte es sich um Nicht-Träger. In einer Long-Term Studie von Provencher (70), sowie in einer Studie von Rubin im Jahre 2002 konnte bereits die gute Wirksamkeit des Medikaments unter Beweis gestellt werden (71).

In der Gruppe der mit Sitaxentan behandelten Probanden ($n= 5$) waren 2 Patienten Träger, 3 Patienten Nicht-Träger. Bereits im Jahre 2004 und 2006 belegten multizentrische Studien zur Wirksamkeit des Medikaments bei Patienten mit pulmonale-arterieller Hypertonie (72,73), die Überlegenheit gegenüber einer Therapie mit Placebo. Bei der Patientengruppe, welche mit Ambrisentan behandelt wurden ($n=4$), konnten bei 3 Patienten eine Mutation im BMPR2-Gen festgestellt werden, bei einem Patienten ergab sich kein Hinweis auf eine solche Mutation. Bereits 2008 konnte in einer Studie von Galiè (74) gezeigt werden, dass eine Therapie mit Ambrisentan einen positiven Effekt auf die Leistungsfähigkeit der Patienten hat. Eine 2012 von Badesch veröffentlichte Studie verdeutlichte ebenfalls eine Überlegenheit gegenüber der Placebo-Therapie (16).

Insgesamt lagen lediglich für 9 Träger und 8 Nicht-Träger vollständige Datensätze für das Outcome unter einer Therapie mit Endothelin-Rezeptor-Antagonisten vor. Die statistische Auswertung dieser Datensätze ergab, dass sich die Gehstrecke im six minute walk unter einer spezifischen Therapie bei den Trägern um 24% (= 69 Meter) und bei den Nicht-Trägern um 26% (= 59 Meter) verändert ($P= 0,92$).

Somit kann zusammengefasst werden, dass in unserer Kohorte lediglich die Ansprache auf PDE5i einen Unterschied zwischen Mutationsträgern und Nicht-Trägern aufwies. Mögliche Gründe dafür könnten sein, dass bei den Trägern durch eine Dysregulation vermehrt glatte Muskelzellen in den Pulmonalerterien proliferieren (46)

und PDE5-Inhibitoren antiproliferative Effekte über die cGMP auf diese ausübt (81), worüber es zu einem verbesserten Ansprechen durch diese Substanzen bei den Trägern kommt. Alternativ könnte es sich hierbei um einen Bias handeln, indem Träger mit einer hohen NYHA-Klasse die Substanz erhielten und durch die Therapie scheinbar besser profierten, das gleiche Ergebnis jedoch auch mit jeder anderen Substanz gezeigt hätten, da es sich hierbei um ein normales Ansprechen auf die Therapie handelt, was bei den Nicht-Trägern durch eine niedrigere NYHA-Klasse statistisch nicht so deutlich heraus kam.

Eine groß angelegte Studie über die spezifische Wirksamkeit der einzelnen Substanzgruppen in Bezug auf eine Mutationsanalyse wurde bislang noch nicht veröffentlicht. Eine solche Studie könnte bei entsprechendem Ergebnis die spezifische Therapie der pulmonalen Hypertonie in der Zukunft revolutionieren und somit den behandelnden Ärzten neue Möglichkeiten in der Nutzung diagnostischer Werte und Mutationsanalysen verleihen.

4.9 Mutationsstatus und klinischer Verlauf

Ein zentrales Thema der hier vorliegenden Studie war es, das Outcome der Träger mit dem der Nicht-Träger zu vergleichen und Rückschlüsse auf einen therapeutischen Nutzen in der Zukunft ableiten zu können.

In der Gießener Kohorte ließ sich durch die Auswertung der gewonnenen Daten folgende Aussage in Bezug auf das klinische Outcome für die Gesamt-Studienpopulation treffen: 63 der 70 untersuchten Patienten mit vollständig vorhandenem Datensatz (= 79%) erfuhren im Beobachtungszeitraum eine Verschlechterung. Lediglich bei 7 Patienten (= 9%) zeigte sich keine Progression der Erkrankung. 68 % (= 54 Patienten) der Patienten waren am Ende des Beobachtungszeitraums noch am Leben, 21 % (=17 Patienten) sind währenddessen verstorben.

In einer ähnlich konzipierten Studie von 2008 (24) verstarben 55 der 223 (= 25%) eingeschlossenen Patienten. Eine Studie von 2007 (75) gab eine Mortalität von 43% (n= 67) in der Studienpopulation (Beobachtungszeitraum: 01/1996-03/2004) mit pulmonal-arterieller Hypertonie an. Somit liegt die Mortalität der Gießener Kohorte sogar etwas unter der der französischen Studie (24) und weit unter dem Ergebnis von Blyth (75) aus dem Jahre 2007.

Es ergab sich in der Gießener Kohorte eine 1-Jahres-Überlebensrate von 100% für die Nicht-Träger und 98% der Träger. Die 2-Jahres-Überlebensrate der Träger lag bei 95%, die der Nicht-Träger bei 97%. Die 3-Jahres-Überlebensrate der Träger betrug 91%, die der Nicht-Träger 89%. Die 5-Jahres-Überlebensrate lag bei den Trägern bei 83%, die der Nicht-Träger bei 73%. Die mittlere Überlebenszeit der Träger (Mittelwert 124 +/- 10) lag über der der Nicht-Träger (Mittelwert 119 +/- 12 Monate). Ein signifikanter Unterschied konnte diesbezüglich nicht gefunden werden ($P= 0,59$).

Der Studie von Sztrymf (24) ist zu entnehmen, dass die mittlere Überlebenszeit der Träger sich nicht signifikant von der der Nicht-Träger unterscheidet ($P= 0,51$). Dieses Ergebnis können wir in der Gießener Kohorte bestätigen. Es ist jedoch zu erwägen, ob sowohl in der hier vorgestellten Arbeit, als auch in der Studie von Pfarr (24) nicht lange genug beobachtet wurde, um einen Unterschied in der Überlebenszeit der beiden Gruppen suffizient darstellen zu können, beziehungsweise die Zahl der verstorbenen Patienten aufgrund verschiedenster (bislang unbekannter) Faktoren nach Ende der Beobachtungszeit ansteigt. Wir schließen aus den hier präsentierten Daten, sowie der Studie von Sztrymf (24), dass eine Mutation im BMPR2-Gen nicht mit einem schlechteren Outcome oder einer erhöhten Mortalität einhergeht und sich die Bestimmung von Mutationen im BMPR2-Gen nicht als prognostischer Faktor in Bezug auf den Krankheitsverlauf und die Lebenserwartung eignet. Es ist jedoch zu erwägen, ob eine spezifische Therapie mit PDE5-Inhibitoren bei Patienten mit einer Mutation im BMPR2-Gen, wie oben beschrieben, einen Einfluss auf die mittlere Überlebenszeit und die Mortalitätsrate hat, was zu einer Verbesserung dieser Parameter und damit einer Verschiebung zu Gunsten der Träger zur Folge hat.

Des Weiteren wurde untersucht, in wie vielen Fällen es im Beobachtungszeitraum zu einem Ereignis klinischer Verschlechterung kam und ob sich diesbezüglich Unterschiede zwischen Trägern und Nicht-Trägern zeigten. Die Auswertung der verwertbaren Datensätze ergab, dass 62 Patienten eine Verschlechterung erlitten, worunter sich 35 Träger (= 92% der Träger) und 27 Nicht-Träger (= 87% der Nicht-Träger) befanden. Die mittlere Zeitspanne bis zu einer Verschlechterung lag bei den Trägern (Mittelwert 35 +/- 5 Monate) unter der der Nicht-Träger (Mittelwert 35 +/- 7 Monate) ($P= 0,48$). Somit ergaben sich in der Gießener Kohorte nur geringe Unterschiede in Bezug auf die Anzahl an Verschlechterungen und keine Unterschiede in der Zeit bis zu einer Verschlechterung in beiden Gruppen.

Unter Miteinbeziehung der Zeit, welche bis zur klinischen Verschlechterung verging, konnte entgegen der veröffentlichten Ergebnisse der französischen Studie im Jahre

2008 (24) in der Gießener Studienpopulation kein signifikanter Unterschied beobachtet werden. Dies könnte mit der kleineren Anzahl an Studienteilnehmern, oder mit anderen, bisher noch nicht identifizierten Risikofaktoren, sowie hier nicht untersuchten Genmutationen erklärbar sein. Ein Unterschied im Patientenkollektiv beider Arbeiten zeigte sich bereits in der Patientenauswahl, da in der Studie von Sztrymf (24) nur die Diagnosen FPAH und IPAH eingeschlossen wurden, wohingegen in der hier vorgestellten Arbeit alle Formen der pulmonalen Hypertonie berücksichtigt wurden, weshalb sich Unterschiede in der Zeit bis zu einer klinischen Verschlechterung bemerkbar machen könnten. Hierbei ist auch zu erwägen, ob der Unterschied daran liegt, dass alle Patienten unabhängig von ihrem Mutationsstatus die gleichen Therapien erhielten, ohne die hier dargestellten Vorteile einer spezifischen Therapie mit PDE5-Inhibitoren bei den Trägern zu berücksichtigen. Dies könnte die Zeit bis zu einer klinischen Verschlechterung beeinflussen, beziehungsweise nahelegen, dass Träger mit einer FPAH oder IPAH deutlicher von einer solchen Therapie profitieren und sich die Zeit bis zu einer klinischen Verschlechterung bei gleichbleibender mittlerer Überlebenszeit verlängert und somit einen kurzfristigen Aufschub vor einer weiteren Progression bietet.

4.9.1 Einschränkungen dieser Studie

Bezüglich der hier vorliegenden Studie müssen folgende Einschränkungen beachtet werden:

Die Anzahl der untersuchten Patienten war gering ($n=80$), sodass möglicherweise eine Vergleichbarkeit mit anderen Studien beeinträchtigt sein könnte. So konnte in ähnlichen Studien (z.B. 24) ein Patientenkollektiv von $n=223$ eingeschlossen werden. Somit ist hierbei eine gewisse Einschränkung der Aussagekraft der hier vorgestellten Studie zu sehen. In Anbetracht dessen, dass es sich bei der pulmonalen Hypertonie um eine seltene Erkrankung handelt, konnten jedoch durch die Rekrutierung an einem für die Erkrankung spezialisierten Zentrum vergleichsweise viele Patienten in der Studie untersucht werden.

Bei einigen Patienten lagen keine vollständigen Datensätze in Bezug auf die verwendete Therapie, das NYHA-Stadium und das klinische Outcome vor. Für die Mehrzahl der Patienten konnte jedoch ein vollständiger Datensatz erhoben werden.

Es wurde ein vergleichsweise langer Beobachtungszeitraum von 11 Jahren verwendet (1996-2007), unter dem es zu einigen Drop-outs und Veränderungen in den

Therapieleitlinien, sowie den verwendeten technischen Hilfsmitteln kam.

Da die Untersuchungen an einem Schwerpunktzentrum durchgeführt wurden, können durch die strukturellen Gegebenheiten die Häufigkeiten einzelner Untergruppen der pulmonalen Hypertonie im Gegensatz zur der in der Allgemeinbevölkerung bestehenden prozentualen Verteilung stehen.

5 Ausblick

Das Erkennen und Bestimmen von Biomarkern in der klinischen Praxis gewinnt mehr und mehr an Stellenwert, sodass das Herausfiltern wesentlicher und klinisch bedeutsamer Biomarker immer wichtiger wird. Mutationen im BMPR2-Gen wurden in den letzten Jahren immer weiter erforscht und zahlreiche Lokalisationen entdeckt. Einige Studien, wie in der Publikation von Pfarr aus dem Jahre 2011 (52) ersichtlich, konnten zeigen, dass ein Screening, gerade in Familien mit Fällen von HPAH sinnvoll sein könnte. Bislang ist die Studienlage, was den Nutzen im Hinblick auf eine spezifische Therapie angeht, noch unzureichend, sodass sich hierbei noch ein großes Feld der klinischen Forschung bei entsprechender Datenlage ergeben und die spezifische Therapieplanung revolutionieren könnte.

Die derzeit erkennbare Tendenz der Publikationen zeigt, dass eine Genanalyse bei Risikopatienten oder bereits diagnostizierten Patienten durchaus als sinnvoll anzusehen ist und die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Praxis ein weiterer wichtiger Schritt sein wird, die Therapie der pulmonalen Hypertonie zu optimieren und ursachenorientiert anpassen zu können. Diese Meinung kann auch nach Auswertung der hier vorgestellten Arbeit mit einigen Einschränkungen bestätigt werden.

Das Ergebnis dieser Arbeit, dass 55% der untersuchten Patienten eine Genmutation im BMPR2-Gen aufwiesen, lag sogar noch über dem Ergebnis der bislang durchgeführten Studien. Hieraus wird deutlich, dass das Verständnis der Erkrankung eng mit der Genetik verknüpft ist und die Erforschung dieser eng miteinander korrelieren. Derzeit sind die Erforschung der Mutationen noch lange nicht abgeschlossen, dennoch zeigt sich bereits jetzt, dass es Unterschiede zwischen Trägern und Nicht-Trägern gibt, welche zur Diagnostik, Therapieplanung und der erwarteten Zeit bis zur klinischen Verschlechterung herangezogen werden können und sollten, um ein umfassendes Verständnis dieser schweren Erkrankung zu erlangen, den Patienten optimal beraten und auf seine spezifischen Bedürfnisse einzugehen, sowie die diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten weiter ausbauen zu können.

Der genaue Stellenwert der Gendiagnostik in Bezug auf die Therapie wird in Zukunft noch weiter untersucht werden müssen. Das Ergebnis dieser Arbeit, dass es in der Gruppe der Mutationsträger unter einer spezifischen Therapie mit Sildenafil zu einer Verbesserung der Gehstrecke im six minute walk um 15% (= 35,7 Meter), bei den

Nicht-Mutationsträgern lediglich um 6% (= 6,1 Meter) ($P= 0,53$) kam, zeigte somit, dass die Träger möglicherweise mehr von einer Therapie mit PDE5-Inhibitoren profitieren als Nicht-Träger. Dies könnte die Einführung eines Screenings bei Patienten mit familiärer Belastung rechtfertigen, um früher (in einem niedrigeren NYHA-Stadium) mit einer spezifischen Therapie (wie hier dargestellt, zum Beispiel mit PDE5-Inhibitoren) beginnen zu können. In diesem Fall könnte bei suffizienter Therapie das Outcome deutlich verbessert und die Mortalität gesenkt werden. Diese Annahme wird jedoch noch in weiteren Studien überprüft werden müssen.

6 Zusammenfassung

Die pulmonale Hypertonie ist eine schwere Erkrankung, deren Ursachen in den letzten Jahren weiter erforscht wurden. In den letzten Jahren wurden umfassende Studien zur Prävalenz von genetischen Veränderungen bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass eine Vielzahl der Betroffenen unter einer Mutation im BMPR2-Gen leidet. Das Ergebnis dieser Arbeit, dass bei 55% der untersuchten Patienten eine Genmutation im BMPR2-Gen vorlag, verdeutlicht noch einmal, dass das Verständnis der Erkrankung eng mit der Genetik verknüpft ist und eine weiterführende Erforschung die spezifische Therapieplanung revolutionieren könnte.

In der hier vorliegenden Arbeit sollte deshalb untersucht werden, ob das klinische Outcome der Träger schlechter ist als das der Nicht-Träger und ob Träger früher oder schwerer erkranken, sowie ob sich aus der Analyse des Genmaterials ein Hinweis auf einen therapeutischen Nutzen ergibt.

Aus diesen Überlegungen heraus konnten zwischen Januar 1996 und Juli 2007 80 Patienten mit unterschiedlichen Unterformen der pulmonalen Hypertonie untersucht werden: Die meisten der Patienten litten unter einer IPAH. Die anthropometrischen Daten des Studienkollektivs waren hierbei mit den Kollektiven anderer Studien vergleichbar.

Zusätzlich wurden klinische Tests wie der 6-Minuten-Gehtest, die Einordnung in die NYHA-Klassifikation, das Alter bei Diagnosestellung und hämodynamische Parameter der Rechtsherzkatheteruntersuchung, sowie die verwendete medikamentöse Therapie mit in die Auswertung einbezogen. Ebenso wurde eine klinische Verschlechterung im Beobachtungszeitraum, beziehungsweise das Eintreten von Todesfällen in der Kohorte dokumentiert und ebenfalls mit in die Analyse eingearbeitet.

Das Alter bei Diagnosestellung bei den Trägern lag wie erwartet mit einem Mittelwert von 41 +/- 14 Jahren unter dem Ergebnis der Nicht-Trägern (Mittelwert 46 +/- 16 Jahre). Die Ergebnisse der NYHA-Klassifikation überraschten, da dort die Träger mit einer durchschnittlichen NYHA-Klassifikation von II/III, in der hier vorgestellten Arbeit 10 Träger mit NYHA II und 21 Träger mit NYHA III (n= 35), einen signifikant (P= 0,05) besseren funktionellen Status aufwiesen als die Nicht-Träger (durchschnittliches NYHA-Stadium: III/IV, 19 Nicht-Träger NYHA III und 9 Nicht-Träger NYHA IV; n= 31). Ebenso konnten die Träger im 6-MW ein besseres Ergebnis erzielen als die Nicht-

Träger (431 \pm 137 m versus 371 \pm 134 m). Bei der Bestimmung des BNP-Wertes konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die Mutationsträger einen niedrigeren Wert (Mittelwert 169 \pm 208 pg/ml) erreichten als die Nicht-Mutationsträger (Mittelwert 388 \pm 443 pg/ml) ($P=0,06$). Dieses Ergebnis überraschte, da laut Studienlage ein erhöhter BNP-Wert mit einer höheren Mortalität und schwereren Erkrankung einhergehen (64), was in weiteren Studien eher den Mutationsträgern zugeordnet werden konnte (24). Aus den Daten der Rechtsherzuntersuchungen und der Auswertung der laborchemischen Parameter Natrium, Hämoglobin, Kreatinin und Harnsäure konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Trägern und Nicht-Trägern gefunden werden. Die vorbeschriebenen signifikant höheren hämodynamischen Einschränkungen der Träger (52, 24) ließen sich abschließend in unserer Studie nicht bestätigen. Zur Frage, ob Träger mehr von einer spezifischen Therapie profitieren, wurde die Veränderung der Gehstrecke im 6-MW als Messgröße für den Therapieerfolg herangezogen. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die Träger mehr von einer spezifischen Therapie mit PDE5-Inhibitoren (Gehstrecke im 6-MW der Träger: 35,7 m vs. 6,1 m bei den Nicht-Trägern; $P=0,35$), jedoch kaum von einer Therapie mit Prostazyklin-Analoga ($P=0,95$) und einer Therapie mit Endothelin-Rezeptor-Antagonisten ($P=0,79$) profitieren. Signifikante Verbesserungen ergaben sich nicht, dennoch sollte dieser Aspekt in weiteren Studien aufgegriffen und weiter untersucht werden, da unter einer spezifischen, suffizienten Therapie das Outcome deutlich verbessert und die Mortalität gesenkt werden könnte.

In Bezug auf das klinische Outcome der Gesamtstudienpopulation zeigte sich, dass von den 70 vollständigen Patientendatensätzen 54 Patienten noch am Leben waren (= 68%) und 17 Patienten verstorben sind (= 21%). Somit lag die Mortalität in Gießen leicht unter der in Vergleichsstudien (24). Insgesamt erfuhren 79% der Studienpopulation eine Verschlechterung. Darunter befanden sich 35 Träger (= 91% der Mutationsträger) und 27 Nicht-Träger (= 87% der Nichtmutationsträger). Die mittlere Überlebenszeit bei den Trägern lag mit 124 \pm 10 Monaten über der MÜZ der Nicht-Träger (119 \pm 12 Monate). Somit starben die Nicht-Träger früher als die Träger. Wir schließen aus den hier präsentierten Daten, sowie der Studie von Sztrymf (24), dass eine Mutation im BMPR2-Gen nicht mit einem schlechteren Outcome oder einer erhöhten Mortalität einhergeht und sich die Bestimmung von Mutationen im BMPR2-Gen nicht als prognostischer Faktor in Bezug auf den Krankheitsverlauf und die Lebenserwartung eignet. Es ist jedoch zu erwägen, ob eine spezifische Therapie mit PDE5-Inhibitoren bei Patienten mit einer Mutation im BMPR2-Gen einen Einfluss auf die mittlere Überlebenszeit und die Mortalitätsrate hat, was zu einer Verbesserung dieser Parameter und damit einer Verschiebung zu Gunsten der Träger zur Folge hat.

Diese Annahme wird in weiteren Studien überprüft werden müssen, um eine abschließende Aussage hierüber treffen zu können. Unter Miteinbeziehung des niedrigeren Alters bei Diagnosestellung der Mutationsträger stellt dieses Ergebnis eine diagnostisch und therapeutisch wertvolle Erkenntnis dar, welche in der klinischen Routine eine bessere Beurteilung des individuellen Verlaufs der Patienten mit pulmonaler Hypertonie ermöglichen könnten.

Zusammenfassend lässt sich aus dieser klinischen Arbeit ableiten, dass das genetische Screening von Pulmonale-Hypertonie-Patienten eine sinnvolle Maßnahme sein kann, um den Verlauf, Outcome und die Wirksamkeit einer spezifischen Therapie besser beurteilen zu können und gegebenenfalls früher (in einem niedrigeren NYHA-Stadium) mit einer spezifischen Therapie (wie hier dargestellt, zum Beispiel mit PDE5-Inhibitoren) zu beginnen, beziehungsweise die Mortalität zu senken.

7 Summary

Due to the serious character of pulmonary hypertension, extensive studies on the prevalence of genetic alterations have been carried out recently. Interestingly, a large number of patients suffer from a mutation in the BMPR2 gene. In this sample of 80 patients, 55% had a genetic mutation in the BMPR2 gene.

The aims of the current study are to give an answer: (i) whether the clinical outcome of carriers of a genetic mutation in the BMPR2 gene is worse than that of non-carriers and (ii) whether carriers have a higher disease burden and (iii) an earlier beginning of the disease and (iv) whether the carriers benefit more from drugs.

Eighty patients with different subtypes of pulmonary hypertension were included: Most of them suffered from idiopathic pulmonary arterial hypertension (IPAH). The anthropometric data of the study population are comparable with other cohorts. 6-minute walking test, NYHA classification, age at primary diagnosis, and hemodynamic parameters were included in the analysis as well as the specific treatments. Further parameters of the analysis were the clinical deterioration measured and the time of death. As expected, the age at primary diagnosis among carriers was 41 +/- 14 years. This result was significantly below the result of non-carriers (46 +/- 16 years). The results of the NYHA classification surprised, because the carrier with an average NYHA class of II/III (10 carrier NYHA II, 21 carrier NYHA III; n=35) had a significantly ($P=0,05$) better functional status than non-carriers (NYHA class III/IV; 19 non-carrier NYHA III, 9 non-carrier NYHA IV; n=31). Similarly, the carrier in the 6-MW achieve a better outcome than non-carriers (431 +/- 137 m versus 371 +/- 134 m). In the evaluation of hemodynamic parameters (sodium, hemoglobin, creatinine, uric acid) was no significant difference between the two groups. The value of BNP has also shown that the mutation carriers had a lower value (169 +/- 208) than the non-mutation carriers (388 +/- 444). This finding is in opposite to the general positive association between BNP value and mortality and more severe disease, respectively (64). Further studies showed comparable results more often in carriers than in non-carriers (24). Data of the right heart catheterization showed no significant difference between carriers and non-carriers. The above significantly higher hemodynamic restrictions in carriers (52, 24) could not conclusively be confirmed within this study. Carriers benefit more from a specific therapy, the change in walking distance in the 6-MW was used as an outcome measurement of the therapy-success.

In the present investigation, carrier benefitted from a more specific treatment with PDE5-Inhibitors (distance walked in 6 MW of carrier: 35.7 m vs. 6.1 m in the non-carriers, $P= 0,35$), but not from treatment with prostacyclin analogs ($P= 0,95$) and treatment with endothelin receptor antagonists ($P= 0.79$). Significant improvements by a specific therapy could not be shown. This aspect should be part of further studies, because under a specific sufficient therapy significantly improves in the clinically outcome and mortality could be reached in the future.

In relation to the clinical outcome, the overall study population represents 70 patient records, 54 patients are still alive (= 68%) and 17 patients died (= 21%) (24). Overall, 79% of the study population experienced a clinical worsening. Among them were 35 carriers (= 91% of the mutation carriers) and 27 non-carriers (= 87% of non-mutation carriers). The mean survival time of carriers was 124 +/- 10 months, the mean survival time of the non-carriers was 119 +/- 12 months. Thus, the carrier died earlier than non-carriers ($P= 0,59$). We conclude from the presented data, as well as the study of Sztrymf (24) about a mutation in the BMPR2 gene is not associated with a worse outcome or increased mortality and the determination of mutations in the BMPR2 gene is not a prognostic factor on disease progression and life expectancy. However, the influence of a specific treatment with PDE5-inhibitors in patients with a mutation in BMPR2 gene has an effect on the mean survival time and the mortality rate has to be evaluated in further studies. Because of the lower age at diagnosis of mutation carriers, this result represents a diagnostically and therapeutically valuable knowledge, could enable a better assessment in the clinical routine of patients with pulmonary hypertension.

In conclusion, this clinical study showed, that a genetic screening of individuals at risk and patients with the pulmonary hypertension disease) can be a useful to improve clinical outcome of patients with pulmonary hypertension. Additionally, an earlier detection of the disease provides the opportunity to an earlier and sooner therapy.

The results of the presented study indicates the chance of the genetic screening of pulmonary hypertension patients may be a useful measure to the progress, outcomes and the effectiveness of a specific therapy. Many patients could be detected by an extensive screening in early stages of disease (at a lower NYHA class) and in addition, these patients could get much earlier a specific treatment (such as shown here, for example PDE5 inhibitors), which has a positive impact on quality of life and could reduce the mortality in the future.

8 Literaturverzeichnis

- 1) **Jonigk D**, M.M. Hoeper, H. Kreipe, F. Länger: Histopathologische Aspekte der pulmonalen Hypertonie
Pathologe 2012; DOI 10.1007/s00292-011-1560-x
- 2) **Tuder R.M.**, MD, Steven H. Abman, MD, Thomas Braun, MD, PhD, Frederique Capron, MD, PhD, Troy Stevens, PhD, Patricia A. Thistlethwaite, MD, PhD, Sheila G. Haworth, MD, (2009): Development and Pathology of Pulmonary Hypertension
Journal of the American College of Cardiology, Vol. 54, No.1, Suppl S, 2009:S3-9
- 3) **Hosseini A.**, Ghofrani, Barst RJ, Benza RL, Champion HC, Fagan KA, Grimminger F, Humbert M, Simmoneau G, Stewart DJ, Ventura C, Rubin LJ (2009): Future Perspectives for the Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension
JACC Vol 54, No 1, Suppl S, 2009;S108-17
- 4) **Rosenkranz S** (2006): Pulmonale Hypertonie: Klassifikation, Pathophysiologie und nicht-invasive Diagnostik
Dtsch Med Wochenschr 2006; 131:295-299
- 5) **Ghofrani H.A.**, S. Rosenkranz, F. Grimminger: Zukunftsaspekte der Therapie der pulmonalen Hypertonie (2006)
Dtsch Med Wochenschr 2006; 131:S338-340
- 6) **Morrell N.W.**, MA, MD, Serge Adnot, MD, PhD, Stephen L. Archer, MD, Jocelyn Dupius, MD, PhD, Peter Lloyd Jones, PhD, Margaret R. MacLean, PhD, Ivan F. McMurtry, PhD, Kurt R. Stenmark, MD, Patricia A. Thistlethwaite, MD, PhD, Norbert Weissmann, PhD, Jason X.-J. Yuan, MD, PhD, E. Kenneth Weir, MD (2009): Cellular and Molecular Basis of Pulmonary Arterial Hypertension
JACC Vol 54, No1, Suppl S, 2009;S20-31
- 7) **Ghofrani H.A.**, MD, Robyn J. Barst, MD, Raymond L. Benza, MD, Hunter C. Champion, MD, PhD, Karen A. Fagan, MD, Friedrich Grimminger, MD, PhD, Marc Humbert, MD, PhD, Gerald Simmoneau, MD, Duncan J. Stewart, MD, Carlo Ventura, MD, PhD, Lewis J. Rubin, MD (2009): Future Perspectives for the Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension
JACC Vol 54, No.1, Suppl S, 2009:S108-17
- 8) **D'Alonzo GE**, Barst RJ, Ayres SM, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, Fishman AP, Goldring RM, Groves BM, Kernis JT, et al. (1991): Survival in patients with primary pulmonary hypertension. Results from a national prospective registry.
Ann Intern Med. 1991; 115:343-9
- 9) **Galiè N**, Manes A, Nero L, et al. (2009): A meta-analysis of randomized controlled trials in pulmonary arterial hypertension.
Eur Heart J 2009; 30: 394-403
- 10) **Thenappan T.**, et al. (2007): A USA-based registry for pulmonary arterial hypertension: 1982-2006.
Eur Respir J, 2007. 30(6):1103-10.
- 11) **Humbert M**, Sitbon O, Chaouat A, et al.: Pulmonary arterial

- hypertension in France: results from a national registry.
Am J Respir Crit Care med 2006; 173:1023-30
- 12)Gaine SP, Rubin LJ (1998):** Primary pulmonary hypertension
15. Lancet 1998; 352 (9129): 719-25
- 13)Olschewski H. (2006):** Derzeitige Empfehlungen zur Diagnostik und
Therapie der pulmonalen Hypertonie
Dtsch Med Wochenschr 2006; 131:S334-337
- 14)Loyd JE, Butler MG, Foround TM, Conneally PM, Phillips JAS III,
Newman JH (1995):** Genetic anticipation and abnormal gender ratio at
birth in familial primary pulmonary hypertension
Am J Respir Crit Care Med 1995; 152:93-97
- 15)Rich S., Dantzker DR, Ayres SM, et al. (1987):** Primary pulmonary
hypertension. A national prospective study.
Ann Intern Med 1987; 107:216-223
- 16)Badesch DB, Feldmann J, Koegh A, Mathier MA, Oudiz RJ, Shapiro S,
Farber HW, McGoon M, Frost A, Allgard M, Despain D, Dufton C, Rubin
LJ, ARIES-3 Study Group:** Ambrisentan therapy in a diverse population
of patients with pulmonary hypertension
Cardiovasc Ther. 2012 Apr; 30(2): 93-9
- 17)Rich S. (1998):** Primary pulmonary hypertension: executive summary
from the World Symposium - Primary Pulmonary Hypertension 1998.
Evian, France: WorldHealth Organization,
1998,<http://www.who.int/ncd/cvd/pph.html>., 2002
- 18)Kuhn KP, Byrne DW, Arbogast PG, et al. (2003):** Outcome in 91
consecutive patients with pulmonary arterial hypertension receiving
epoprostenol
Am J Respir Crit Care Med 2003; 167:580-6
- 19)Simonneau G, Galie N, Rubin LJ, Langleben D, Seeger W,
Domenighetti G, Gibbs S, Lebrec D, Speich R, Beghetti M, Rich S,
Fishman A. (2004):** Clinical classification of pulmonary hypertension
J Am Coll Cardiol. 2004; 43(12 Suppl S): 5S-12S
- 20)Simonneau G., MD, Ivan M. Robbins, MD, Maurice Beghetti, MD,
Richard N. Channick, MD, Marion Delcroix, MD, PhD, Christopher P.
Denton, MD, PhD, C. Gregory Elliot, MD, Sean P. Gaine, MD, Michael J.
Krowka, MD, David Langleben, MD, Norifumi Nakanishi, MD, PhD,
Rogerio Souza, MD (2009):** Updatet Clinical Classification of Pulmonary
Hypertension
JACC, Vol 54, No.1, Suppl S, 2009; S43-54
- 21)Olschewski H, Rose f, Grunig E, Ghofrani HA, Walmrath D, Schulz R,
Schermlay R, Grimminger F, Seeger W. (2001):** Cellular
pathophysiology and therapy of pulmonary hypertension
J Lab Clin Med. 2001; 138:367-77
- 22)Jeffery TK, Morell NW (2002):** Molecular and cellular basis of
pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension
Prog Cardiovasc Dis 2002; 45:173-202
- 23)Runo JR, Loyd JE.: Primary pulmonary hypertension**
Lancet 2003; 361(9368): 1533-44
- 24)Sztrymf B, Coulet F, Girerd B, Yaici A, Jais X, Sitbon O, Montani D,
Souza R, Simonneau G, Soubrier F, Humbert M (2008):** Clinical
Outcomes of Pulmonary Arterial Hypertension in Carriers of BMPR2

Mutation.

Am J Respir Crit Care Med 2008; 177:1377-1383

- 25) Aldred MA**, Vijayakrishnan J, James V, Soubrier F, Gomez-Sanchez MA, Martensson G, Galie N, Manes A, Corris P, Simonneau G, et al. (2006): BMPR2 gene rearrangements account for a significant proportion of mutations in familial and idiopathic pulmonary arterial hypertension.
Hum Mutat 2006; 27:212-213
- 26) Thomson JR**, Machado RD, Pauciulo MW, Morgan NV, Humbert M, Elliott GC, Ward K, Yacoub M, Mikhail G, Rogers P, et al. (2000): Sporadic primary pulmonary hypertension is associated with germline mutations of the gene encoding BMPR-II, as a receptor member of the TGF β family
J Med Genet 2000; 37:741-745
- 27) Humbert M**, Deng Z, Simonneau G, Barst RJ, Sitbon O, Wolf M, Cuervo N, Moore KJ, Hodge SE, Knowles JA, et al. (2002): BMPR2 germline mutations in pulmonary hypertension associated with fenfluramine derivatives.
Eur Respir J 2002; 20:518-523
- 28) Koehler R**, Grunig E, Pauciulo MW, Hoeper MM, Olschewski H, Wilkens H, Halank M, Winkler J, Ewert R, Bremer H, et al. (2004): Low frequency of BMPR2 mutations in a German cohort of patients with sporadic idiopathic pulmonary arterial hypertension
J Med Genet 2004; 41:e127
- 29) Morisaki H**, Nakanishi N, Kyotani S, Takashima A, Tomoike H, Morisaki T (2004): BMPR2 mutations found in Japanese patients with familial and sporadic primary pulmonary arterial hypertension
Hum Mutat 2004; 23:632
- 30) Machado RD**, Aldred MA, James V, Harrison RE, Patel B, Schwalbe EC, Gruenig E, Janssen B, Koehler R, Seeger W, et al. (2006): Mutations of the TGF- β type II receptor BMPR2 in pulmonary arterial hypertension.
Hum Mutat 2006; 27:121-132
- 31) Lane KB**, Machado RD, Pauciulo MW, Thomson JR, Philips J A 3rd, Loyd JE, Nichols WC, Trembath RC (2000): Heterozygous germline mutations in a TGF β receptor , BMPR2, are the cause of familial primary pulmonary hypertension.
Nat Genet 2000; 26:81-84
- 32) Deng Z**, Morse JH, Slager SL, Cuervo N, Moore KJ, Venetos G, Kalachikov S, Cayanis E, Fischer SG, Barst RJ, et al. (2000): Familial primary pulmonary hypertension (gene PPH1) is caused by mutations in the bone morphogenetic protein receptor-II gene
Am J Hum Genet 2000; 67:737-744
- 33) Newman , MD**, Wheeler, BS, Lane, PhD, Loyd, BA, Gaddipati, MB, BS, Phillips III, MD, Loyd, MD (2001): Mutation in the gene for bone morphogenetic protein receptor II as a cause of primary pulmonary hypertension in a large kindred
N Engl J Med, Vol 345, No.5; 2001; 345:319-324
- 34) Cogan JD**, Pauciulo MW, Batchman AP, Prince MA, Robbins IM, Hedges LK, Stanton KC, Wheeler LA, Phillips JA 3rd, Loyd JE, et al. (2006): High frequency of BMPR2 exonic deletions/duplications in

- familial pulmonary arterial hypertension
Am J Respir Crit Care Med 2006; 174:590-598
- 35)Sztrymf B, Yaici A, Girerd B, Humbert M (2007):** Genes and pulmonary hypertension
Respiration 2007; 74:123-132
- 36)Massague J, Blain SW, Lo RS. (2000):** TGF-beta signaling in growth control, cancer and heritable disorders
Cell 2000; 103:295-309
- 37)Rahimi RA, Leof EB:** TGF-beta signaling: a tale of two responses
J Cell Biochem 2007; 102: 593-608
- 38)Hatton N., T. Frech, B. Smith, A. Sawitzke, M.B. Scholand, B. Markewitz:** Transforming growth factor signaling: a common pathway in pulmonary arterial hypertension and systemic sclerosis
Int J Clin Pract, 2011; 65 (suppl. 172), 35-43
- 39)Löffler G., P. Petrides:** Lehrbuch der Biochemie und Pathobiochemie
6. Auflage Springer-Verlag, 1998; 743-50,838,967,1077
- 40)Miyazono K, Kamiya Y, Morikawa M.(2010):**Bone morphogenetic protein receptors and signal transduction.
J Biochem 2010; 147:35–51
- 41)Moustakas A, Heldin CH.(2009):** The regulation of TGFbeta signal transduction.
Development 2009; 136:3699–714
- 42)Fuji M, Takeda K, Imamura T, Aoki H, Sampath TK, Enomoto S, Kawabata M, Kato M, Ichijo H, Miyazono K (1999):** Roles of bone morphogenetic protein receptor type I and smad proteins in osteoblast and chondroblast differentiation.
Mol Biol Cell 1999; 10:3801-3813
- 43)Kishigami S, Mishina Y.** BMP signaling and early embryonic patterning.
Cytokine Growth Factor Rev 2005;16:265–78.
- 44)Zhao GQ.** Consequences of knocking out BMP signaling in the mouse.
Genesis 2003;35:43–56
- 45)Lowery J.W., Caestecker de M.P.(2010):** BMP signaling in vascular development and disease
Cytokine & Growth Factor Reviews 21, 2010; 287-298
- 46)Machado RD, Pauciulo MW, Thomson JR, Lane KB, Morgan NV, Wheeler L, Phillips JA 3rd, Newman J, Williams D, Galiè N, et al. (2001):** BMPR2 haploinsufficiency as the inherited molecular mechanism for primary pulmonary hypertension.
Am J Hum Genet 2001; 68:92-102
- 47)Larkin EK, Newman JH, Austin ED, Hemnes AR, Wheeler L, Robbins IM, West JD, Phillips JA III, Loyd JE (2012):** Longitudinal Analysis Casts Doubt on the Presence of Genetic Anticipation in Heritable Pulmonary Arterial Hypertension
Am J Respir Crit Care Med 2012; Vol 186, Iss 9, pp 892-896
- 48)Humbert M., Morrell NW, Archer SL, Stenmark KR, MacLean MR, Lang IM, Christman BW, Weir EK, Eickelberg O, Voelkel NF, et al.:** Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension.
J Am Coll Cardiol 2004; 43:13S-24S
- 49)Elliott CG, Glissmeyer EW, Havlena GT, Carlquist J, McKinney JT, Rich S, McGoon MD, Scholand MB, Kim M, Jensen RL, et al. (2006):**

- Relationship of BMPR2 mutations to vasoreactivity in pulmonary arterial hypertension.
Circulation 2006; 113:2509-2515
- 50) Liu D., Liu Q-Q., Eyries M., W-H. Wu, Yuan R., Zhang R., Soubrier F., Jing Z-C. (2012):** Molecular genetics and clinical features of Chinese idiopathic and heritable pulmonary arterial hypertension patients
Eur Respir J 2012; 39:597-603
- 51) Machado RD, Eickelberg O, Elliott CG, Geraci MW, Hanaoka M, Loyd JE, Newman JH, Philips JA, Soubrier F, Trembath RC, Chung WK:** Genetics and genomics of pulmonary arterial hypertension
J Am Coll Cardiol 2009; 54:S32-42
- 52) Pfarr et al.:** Hemodynamic and clinical onset in patients with hereditary pulmonary arterial hypertension and BMPR2 mutations.
Respiratory Research 2011; 12:99
- 53) Austin ED, Loyd JE, Phillips JA:** Genetics of pulmonary arterial hypertension
Semin Respir Crit Care Med 2009; 30:386-398
- 54) Leuchte HH, Neurohr C, Baumgartner R, Holzapfel M, Giehl W, Vogeser M, Behr J (2004):** Brain natriuretic peptide and exercise capacity in lung fibrosis and pulmonary hypertension. Am J Respir Crit Care Med, 2004; 170(4):360-5
- 55) Torbicki A, Kurzyna M, Kuca P, Fijalkowska A, Sikora J, Florczyk M, Pruszyk P, Burakowski J, Wawrzynska L (2003):** Detectable serum cardiac troponin T as a marker of poor prognosis among patients with chronic precapillary pulmonary hypertension.
Circulation, 2003; 108(7):844-8
- 56) Opitz C.F., R. Blindt, F. Blumberg, M.M. Borst, L. Bruch, H. Leuchte, C. Nagel, K. Peters, S. Rosenkranz, D. Schranz, D. Skowasch, M. Lichtblau, H. Tiede, J. Weil, R. Ewert (2010):** Pulmonale Hypertonie: invasive Diagnostik; Empfehlungen der Kölner Konsensus-Konferenz 2010
Dtsch Med Wochenschr 2010; 135:S78-S86
- 57) Grünig E., A. Barner, M. Bell, M. Claussen, M. Dandel, D. Dumitrescu, M. Gorenflo, S. Holt, G. Kovacs, S. Ley, J. F. Meyer, S. Pabst, G. Riemekasten, J. Saur, M. Schwaiblmair, C. Seck, L. Sinn, S. Sorichter, J. Winkler, H. H. Leuchte (2010):** Nicht-invasive Diagnostik der pulmonalen Hypertonie; ESC/ERS-Leitlinien mit Kommentierung der Kölner Konsensus-Konferenz 2010
Dtsch Med Wochenschr 2010; 135:S67-S77
- 58) Ghofrani H.A., Hoeper M.M. (2006):** Medikamentöse Kombinationstherapie der pulmonal-arteriellen Hypertonie
Dtsch Med Wochenschr 2006; 131:S330-S333
- 59) Wahlers Th. (2006):** Chirurgische Therapie der pulmonalen Hypertonie
Dtsch Med Wochenschr 2006; 131:S315-S318
- 60) Benza L. Raymond, MD, Mardi Gomberg-Maitland, MD, MSc, Robert Naeije, MD, PhD, Carl P. Arneson, MStat, and Irene M. Lang, MD:** Prognostic factors associated with increased survival in patients with pulmonary arterial hypertension treated with subcutaneous treprostinil in randomized, placebo-controlled trials.
The Journal of Heart and Lung Transplantation 2011; 30:982-9

- 61)Humbert** Marc, MD, PhD, Vallerie V. McLaughlin, MD: The 4th World Symposium on Pulmonary Hypertension.
Journal of the American College of Cardiology 2009; Vol. 54, No.1, ISSN 0735-1097
- 62)Humbert** M, Morrell NW, Archer SL, Stenmark KR, MacLean MR, Lang IM, Christman BW, Weir EK, Eickelberg O, Voelkel NF, et al. (2004): Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. Circulation 2006; 43:13S-24S
- 63)Humbert** Marc, Olivier Sitbon, Ari Chaouat, et al.: Survival in Patients With Idiopathic, Familial, and Anorexigen-Associated Pulmonary Arterial Hypertension in the Modern Management Era. Circulation 2010; 122; 156-163
- 64)Mauritz** Gert-Jan, MSc, Dimitris Rizopoulos PhD, Herman Groepenhoff, MSc, Henning Tiede, MD, PhD, Janine Felix, MD, PhD, Paul Eilers, PhD, Joachim Bosboom, BSc, Pieter E. Postmus, MD, PhD, Nico Westerhof, PhD, and Anton Vonk-Noordegraaf, MD, PhD: Usefulness of serial N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide Measurements for Determining Prognosis in Patients With Pulmonary Arterial Hypertension. Am J Cardiol 2011; 0002-9149/11
- 65)Dewachter** L., Adnot S, Guignabert C, Tu L, Marcos E, Fadel E, Humbert M, Darteville P, Simonneau G, Naeije R, Eddahibi S: Bone morphogenetic protein signaling in heritable versus idiopathic pulmonary hypertension Eur Respir J 2009; 34:1100-1110
- 66)Rubin** Lewis J., David B. Badesch, Thomas R. Fleming, Nazzareno Galiè, Gerald Simonneau, Hossein A. Ghofrani, Michael Oakes, Gary Layton, Marjana Serdarevic-Pehar, Vallerie V. McLaughlin and Robyn J. Barst: Long-Term Treatment with Sildenafil Citrate in Pulmonary Arterial Hypertension: SUPER-2 Chest, Republished online May 5, 2011; DOI 10.1378/chest. 10-0969
- 67)Galiè** Nazzareno, M.D., Hossein A. Ghofrani, M.D., Adam Torbicki, M.D., Robyn J. Barst, M.D., Lewis J. Rubin, M.D., David Badesch, M.D., Thomas Fleming, Ph.D., Tamiza Parpia, Ph.D., Gary Burgess, M.D., Angelo Branzi, M.D., Friedrich Grimminger, M.D., Marcin Kurzyna, M.D., and Gérald Simonneau, M.D.: Sildenafil Citrate Therapie for Pulmonary Arterial Hypertension N Engl J Med 2005; 353:2148-57
- 68)Hoepfer** Marius M., M.D., Michael Schwarze, Stefan Ehlerding, Angelika Adler-Schuermeier, R.N., Edda Spiekerkoetter, M.D., Jost Niedermeyer, M.D., Michael Hamm, M.D., Helmut Fabel, M.D.: Long-Term Treatment of Primary Hypertension with aerosolized Iloprost, a Prostacyclin Analogue N Engl J Med 2000; 342:1866-70
- 69)Jing** Z-C., X. Jiang, Z-Y. Han, X-Q. Xu, Y. Wang, Y. Wu, H. Lv, C-R. Ma, Y-J. Yang, J-L. Pu: Iloprost for pulmonary vasodilator testing in idiopathic pulmonary arterial hypertension Eur Respir J 2009; 33: 1354-1360
- 70)Provencher** Steeve, Olivier Sitbon, Marc Humbert, Ségolène Cabrol, Xavier Jais, Gérald Simonneau: Long-term outcome with first-line

- bosentan therapy in idiopathic pulmonary arterial hypertension
European Heart Journal 2006; 27, 589-595
- 71) Rubin** Lewis J, M.D., David B. Badesch, M.D., Robyn J. Barst, M.D., Nazzareno Galiè, M.D., Carol M. Black, M.D., Anne Keogh, M.D., Tomas Pulido, M.D., Adaani Frost, M.D., Sébastien Roux, M.D., Isabelle Leconte, Ph.D., Michael Landzberg, M.D., Gérald Simonneau, M.D.: Bosentan Therapie For Pulmonary Arterial Hypertension
N Engl J Med 2002; 346:896-903
- 72) Barst** J. Robyn, David Langleben, Adaani Frost, Evelyn M. Horn, Ronald Oudiz, Shelley Shapiro, Vallerie McLaughlin, Nicholas Hill, Victor F. Tapson, Ivan M. Robbins, Diane Zwicke, Benjamin Duncan, Richard A. F. Dixon, Lyn R. Frumkin, and the STRIDE-1 Study Group: Sitaxsentan Therapy for Pulmonary Arterial Hypertension
Am J Respir Crit Care Med 2004; Vol 169, pp 441-447
- 73) Barst** Robyn J., M.D., David Langleben, M.D., David Badesch, M.D., Adaani Frost, M.D., E. Clinton Lawrence, M.D., Shelley Shapiro, M.D., Robert Naeije, M.D., Nazzareno Galie, M.D., on behalf of the STRIDE-2 Study Group: Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension With the Selective Endothelin-A Receptor Antagonist Sitaxentan
Journal of the American College of Cardiology 2006: 2049-56
- 74) Galiè** N, Olschewski H, Oudiz RJ, Torres F, Frost A, Ghofrani HA, Badesch DB, McGoon MD, McLaughlin W, Roecker EB, Gerber MJ, Dufton C, Wiens BL, Rubin LJ: Ambrisentan for the treatment of pulmonary arterial hypertension: results of the ambrisentan in pulmonary arterial hypertension, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter, efficacy (ARIES) study 1 and 2
Circulation 2008; 117(23): 3010-9
- 75) Blyth** Kevin G., Raheel Syied, James Chalmers, John E. Foster, Tarek Saba, Robert Naeije, Christian Melot, Andrew J. Peacock: Pulmonary arterial pulse pressure and mortality in pulmonary arterial hypertension
Respiratory Medicine 2007; 101, 2495-1501
- 76) Ghofrani** H.A., Grimminger F. (2006): Therapie der pulmonalarteriellen Hypertonie: Phosphodiesterase-5-Inhibitoren
Dtsch Med Wochenschr 2006; 131:S311-S314
- 77) Ghofrani** H.A., Hoeper M.M. (2006): Medikamentöse Kombinationstherapie der pulmonal-arteriellen Hypertonie
Dtsch Med Wochenschr 2006; 131:S330-S333
- 78) Hoeper** M.M. (2006): Therapie der pulmonalarteriellen Hypertonie: Endothelin-Rezeptor-Antagonisten
Dtsch Med Wochenschr 2006; 131:S308-S310
- 79) Olschewski** H, Simonneau G, Galie N, Hingebottam T, Naeije R, Rubin LJ, Nikkho S, Speich R, Hoeper MM, Behr J, Winkler J, Sitbon O, Popov W, Ghofrani HA, Manes A, Kiely DG, Ewert R, Meyer A, Corris PA, Delcroix M, Gomez-Sanchez M, Siedentop H, Seeger W (2002): Aerosolized Iloprost Randomized Study Group. Inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension.
N Engl J Med. 2002; 347:322-9
- 80) Olschewski** H. (2006): Therapie der pulmonalarteriellen Hypertonie: Prostazyklin-Analoga
Dtsch Med Wochenschr 2006; 131:304-307
- 81) Wharton** John, Strange Julian W., Gigi M. O. Møller, Ellena J. Growcott,

Xiaohui Ren, Angela P. Franklyn, Stephen C. Phillips, and Martin R. Wilkins (2005): Antiproliferative effects of Phosphodiesterase Type 5 Inhibition in Human Pulmonary Artery Cells
Am J Respir Crit Care Med Vol 172. pp 105–113, 2005

- 82) Rubin** LJ. Diagnosis and management of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidencebasedclinical practice guidelines. Chest 2004; 126(1 Suppl):7S-10S.

9 Anhang

9.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Geschlechterverteilung	- 14 -
Abbildung 2: Alter bei Diagnosestellung im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse .	- 16 -
Abbildung 3: Diagnosedatum im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse	- 16 -
Abbildung 4: NYHA-Stadien	- 17 -
Abbildung 5: NYHA-Stadium im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse	- 18 -
Abbildung 6: Six minute walk im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse	- 19 -
Abbildung 7: Natrium-Wert im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse	- 20 -
Abbildung 8: Hb-Wert im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse	- 20 -
Abbildung 9: Kreatinin-Wert im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse	- 21 -
Abbildung 10: Harnsäure-Wert im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse	- 21 -
Abbildung 11: BNP-Wert im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse	- 22 -
Abbildung 12: mPAP-Wert im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse	- 23 -
Abbildung 13: HMV im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse	- 23 -
Abbildung 14: PVR im Zusammenhang mit der Mutationsanalyse	- 24 -
Abbildung 15: Verteilungsmuster Therapie mit Sildenafil	- 25 -
Abbildung 16: Absolute Änderung six minute walk unter PDE5-Inhibitoren	- 27 -
Abbildung 17: Relative Änderung six minute walk unter PDE5-Inhibitoren	- 27 -
Abbildung 18: Verteilungsmuster Therapie mit Iloprost	- 28 -
Abbildung 19: Absolute Änderung six minute walk unter Prostazyklin-Analoga	- 29 -
Abbildung 20: Relative Änderung six minute walk unter Prostazyklin-Analoga	- 29 -
Abbildung 21: Verteilungsmuster Therapie mit Bosentan	- 30 -
Abbildung 22: Verteilungsmuster Therapie mit Sitaxentan	- 31 -
Abbildung 23: Verteilungsmuster Therapie mit Ambrisentan	- 32 -
Abbildung 24: Absolute Änderung six minute walk unter ERA	- 33 -
Abbildung 25: Relative Änderung six minute walk unter ERA	- 33 -
Abbildung 26: Time to death	- 35 -
Abbildung 27: Time to clinical worsening der gesamten Studienpopulation	- 36 -
Abbildung 28: Time to clinical worsening in Abhängigkeit von der Mutationsanalyse-	- 37 -

9.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Modifizierte NYHA-Klassifikation bei pulmonaler Hypertonie(17)	- 3 -
Tabelle 2: Update Clinical Classification of Pulmonary Hypertension (20)	- 4 -
Tabelle 3: Übersicht Vorhandensein Mutation in Bezug auf die Diagnose	- 15 -
Tabelle 4: Übersicht NYHA-Klassifikation Probanden.....	- 17 -
Tabelle 5: Hämodynamik.....	- 24 -
Tabelle 6: Änderung six minute walk unter Sildenafil-Therapie.....	- 26 -
Tabelle 7: Änderung six minute walk unter Prostazyklin-Analoga	- 28 -
Tabelle 8: Änderung des six minute walk unter Endothelin-Rezeptor-Antagonisten	- 33 -
Tabelle 9: Klinische Verschlechterung.....	- 34 -
Tabelle 10: Verstorbene Patienten	- 34 -
Tabelle 11: Number of events.....	- 36 -

9.3 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ALK1	Activin receptor-like kinase type 1
ASD	Atrium-Septum-Defekt
BMP	bone morphogenetic proteins
BMPR2	bone morphogenetic protein receptor type 2
BNP	brain natriuretic peptide
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CI	cardiac index
CO	„cardiac output“, Herzzeitvolumen
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CTEPH	Chronisch thrombotische/ embolische pulmonale Hypertonie
DHPLC	high-performance liquid chromatography
DNA	Desoxyribonucleic acid
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ERA	Endothelin-Rezeptor-Antagonist
FPAH	familiäre pulmonale Hypertonie
Hb	Hämoglobin
HIV	Human immunodeficiency virus
HMV	Herz-Minuten-Volumen
HPAH	Hereditäre pulmonal-arterielle Hypertonie
IPAH	idiopathische pulmonale Hypertonie
LTX	Lungentransplantation
m	Meter
m ²	Quadratmeter
MLPA	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplifikation
mPAP	pulmonal-arterieller Mitteldruck
MÜZ	Mittlere Überlebenszeit
NO	Stickstoffmonoxid
NYHA	New York Heart Association
O ₂	Sauerstoff
PAH	pulmonal-arterielle Hypertonie
PAP	pulmonal-arterieller Druck
PAWP	pulmonalarterieller Verschlussdruck, Wedge- Druck
PCH	pulmonal-kapilläre Hämangiomatose
PDE5	Phosphodiesterase-5

PDE5i	Phosphodiesterase-5-Inhibitor
PH	pulmonale Hypertonie
PPH	primäre pulmonale Hypertonie
PVH	pulmonal-venöse Hypertonie
PVOD	pulmonale venookklusive Erkrankung
PVR	pulmonaler vaskulärer Widerstand
sixmw	six minute walk
SLE	Systemischer Lupus Erythematoses
SMC	smooth muscle cell
SO ₂	Sauerstoffsättigung
Tab.	Tabelle
TnT	Troponin T
TTCW	Time to clinical worsening
TGF- β	transforming growth factor- β
VEGF	vascular endothelium growth factor
vs.	versus

10 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. A. Ghofrani für die Überlassung dieses Dissertationsthemas, sowie Herrn Dr. H. Gall für seine wertvollen Tipps, seine geduldige Unterstützung und die Hilfe bei der statistischen Analyse/Auswertung.

Ebenfalls möchte ich mich beim Team der Ambulanz für Pulmonale Hypertonie für die nette Zusammenarbeit und die stets aufmunternden Worte bedanken.

Mein weiterer Dank gilt:

Meinem Ehemann Simon für das geduldige Gegenlesen dieser Arbeit und seine liebevolle Art mich zu motivieren.

Meinen Eltern, die immer an mich geglaubt haben und mich stets ermutigt haben, weiter zu machen und die Herausforderungen anzunehmen.

Meinen Großeltern für die Unterstützung, die sie mir schon mein ganzes Leben entgegenbringen.

Meinem Freund und Oberarzt Dr. Florian Metzger für seine wertvollen Tipps und seine Unterstützung in der Zeit der Doppelbelastung.